Postverlagsort Berlin

PLANTA

ARCHIV FÜR WISSENSCHAFTLICHE BOTANIK

BEGRÜNDET VON **W. RUHLAND** UND **H. WINKLER**

UNTER MITWIRKUNG VON
J. BONNER-PASADENA, **A. ERNST**-ZÜRICH
H. v. GUTTENBERG-ROSTOCK, **R. HARDER**-GÖTTINGEN, **O. RENNER**-MÜNCHEN
W. RUHLAND-UNTERDEUFSTETTEN, **W. SCHUMACHER**-BONN

HERAUSGEGEBEN VON
L. BRAUNER MÜNCHEN
E. BÜNNING TÜBINGEN

52. BAND, 4. HEFT
MIT 45 TEXTABBILDUNGEN
(ABGESCHLOSSEN AM 9. DEZEMBER 1958)

SPRINGER-VERLAG
BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
1958

Planta (Berl.)

Preis DM 24.60

Planta. Archiv für wissenschaftliche Botanik

Begründet 1925. Band 1—34 (1945) herausgegeben von *W. Ruhland* und *H. Winkler*. (Band 1—21, 1934, als „Zeitschrift für wissenschaftliche Biologie", Abteilung E.) Band 35—47. Herausgegeben von *W. Ruhland* und *O. Renner*. Band 48—51. Herausgegeben von *W. Ruhland*, *L. Brauner* und *E. Bünning*

Die Zeitschrift „Planta", Archiv für wissenschaftliche Botanik, steht in deutscher Sprache oder einer der Kongreßsprachen, sofern sie die Muttersprache des Autors ist, abgefaßten Originalarbeiten aus dem Gesamtgebiet der Botanik, abgesehen von solchen rein systematischen oder floristischen Inhalts, offen.

Arbeiten, welche einen Vermerk des Verfassers „Kurze Mitteilung" tragen, werden sobald wie möglich außerhalb der Reihenfolge des Eingangs abgedruckt. Ihr Umfang darf 4 Druckseiten nicht überschreiten; die Beigabe von Abbildungen ist nur in Ausnahmefällen angängig.

Die Zeitschrift erscheint zur Ermöglichung raschester Veröffentlichung zwanglos in einzeln berechneten Heften, die zu Bänden vereinigt werden.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 40.— für eine Arbeit. Für „Kurze Mitteilungen" wird ein Unkostenersatz nicht erstattet.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophotographien u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit bis auf weiteres zusammen 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

Aufnahmebedingungen siehe 3. Umschlagseite.

Alle Manuskripte und Anfragen sind zu richten an

Professor Dr. Leo Brauner, München 19, Menzingerstr. 67, Botanisches Institut der Universität, oder an

Professor Dr. Erwin Bünning, Tübingen, Botanisches Institut der Universität, Wilhelmstraße 5.

Springer-Verlag
Berlin-Wilmersdorf, Heidelberger Platz 3, Fernsprecher 83 03 01
und
Heidelberg, Neuenheimer Landstr. 28—30, Fernsprecher 2790 1

---

52. Band **Inhaltsverzeichnis** 4. Heft

Seite

Schötz, F., Periodische Ausbleichungserscheinungen des Laubes bei Oenothera. Mit 25 Textabbildungen 351

Kiermayer, O., Induktion von Eingeschlechtlichkeit, sowie Gamophyllie an Blüten durch 2,3,5-Trijodbenzoesäure. Mit 4 Textabbildungen 393

Pringsheim, E. G., Über Mixotrophie bei Flagellaten 405

Heber, U., Ursachen der Frostresistenz bei Winterweizen. II. Mitteilung. Die Bedeutung von Aminosäuren und Peptiden für die Frostresistenz. Mit 9 Textabbildungen 431

Sander, H., Über Photoperiodismus und Thermoperiodismus der Blütenentwicklung im Zusammenhang mit dem Tomatingehalt bei einigen Lycopersicon-Arten. Mit 7 Textabbildungen 447

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinne der Warenzeichen- und Markenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Planta, Bd. 52, S. 351—392 (1958)

Aus dem Botanischen Institut der Universität München

PERIODISCHE AUSBLEICHUNGSERSCHEINUNGEN DES LAUBES BEI OENOTHERA*

Von

FRANZ SCHÖTZ

Mit 25 Textabbildungen

(Eingegangen am 4. August 1958)

Die Oenotheren bekommen bei Kreuzungen häufig sowohl von der Mutter wie vom Vater Plastiden mit, die sich aber infolge ihrer verschiedenen genetischen Konstitution nicht immer in gleicher Weise mit dem Bastardkern vertragen. Auf diese Weise können bunte Pflanzen entstehen, nämlich dann, wenn die Plastiden, die mit dem Bastardkern nicht harmonieren, mehr oder weniger bleich werden (und damit jene Zellen und Areale, in denen sie sich befinden), während diejenigen, die sich mit dem Kern gut vertragen, ergrünen. Diese Art der Buntheit wird Bastardscheckung genannt (Renner 1934, SCHÖTZ 1954, 1955).

Wenn die hergestellten Bastarde nur die Plastiden des einen Elternteils enthalten (gewöhnlich sind dies diejenigen der Mutter) und wenn diese Plastiden mit dem Genom nicht harmonieren, so können die betroffenen Pflanzen, je nach der Stärke der Disharmonie, völlig hellgrün, gelbgrün, hellgelb oder weiß sein. Man spricht dann am besten von einer Bastardbleichheit.

Diese bleichen Bastarde sind schon lange bekannt, und die am stärksten geschädigten Formen, das sind die gelbgrünen bis weißen Typen, hielt man für grundsätzlich lebensunfähig, da sie normalerweise nicht über das Keimblattstadium hinauskommen, sondern eingehen. Genauere Untersuchungen über die Lebensfähigkeit einiger solcher Bastarde, nämlich *Oenothera (atrovirens* × *biennis) pictirubata* mit *biennis*-Plastiden, *Oe. (parviflora* × *biennis) auctirubata* mit *biennis*-Plastiden, *Oe. (hookeri* × *syrticola) hookericurva* mit *hookeri*-Plastiden, *Oe. (hookeri* × *atrovirens) hookeriflexa* mit *hookeri*-Plastiden und *Oe. (bauri* × *atrovirens) laxiflexa* mit *bauri*-Plastiden, führten aber zu dem Ergebnis, daß sie unter bestimmten Voraussetzungen am Leben erhalten werden können und daß dann die als Bastardbleichheit bezeichnete Störung nicht dauernd in gleicher Weise auf die betroffenen Pflanzen einwirkt, sondern ihre Stärke im Laufe der Zeit verändert. Infolgedessen kommt es zu periodischen Veränderungen der Laubfärbung, also zu einer Buntheit, die nichts mit Bastardscheckung zu tun hat (SCHÖTZ u. REICHE 1957).

* Als Habilitationsschrift bei der Naturwissenschaftlichen Fakultät der Universität München eingereicht.

Bei den genannten Formen zeigte sich die Periodizität im wesentlichen darin, daß die Keimlinge nach der Aussaat zunächst eine „erste grüne Periode" durchmachen, in der Kerne und Plastiden verhältnismäßig gut zusammenarbeiten. Dann kommt es zu einer Störung dieses Zusammenwirkens, derzufolge die Pflanzen ausbleichen und u. U. auch eingehen. Gelingt es aber, die Pflanzen über diese Zeit lebend hinwegzubringen (etwa durch sterile Kultur), so passen sich in einer „zweiten grünen Periode" Kern und Plastiden wieder aneinander an, so daß im weiteren Verlauf schließlich ganz normal grüne Pflanzen entstehen können. Meistens bleibt aber auch in dieser zweiten grünen Periode noch eine mehr oder weniger starke Reststörung erhalten, die die Pflanzen photolabil macht und bewirkt, daß man sie nur im schattierten Gewächshaus oder gar nur bei schwacher künstlicher Beleuchtung (verwendet wurden 6000 Lux) heranziehen kann. Bei direkter Sonnenbestrahlung gehen diese Typen ein.

Ich bin auf diese Ausbleichungsformen im Verlauf von Arbeiten gestoßen, die sich mit dem Problem der Plastidenvererbung befaßten. Es ist klar, daß bei ihrer Beobachtung sofort die Frage auftritt, worin, physiologisch betrachtet, die Disharmonie zwischen Kern und Plastiden besteht und worauf die Veränderungen in den Zellen und Geweben beruhen, die diese Disharmonien in bestimmten Lebensabschnitten stärker oder schwächer zur Wirkung kommen lassen. Um dieser Frage näher zu treten, wurden zunächst Pflanzen untersucht, die bereits die zweite grüne Periode erreicht hatten, aber auch in dieser noch ziemlich starke Schädigungen zeigten. Es wurde dabei angenommen, daß die Schädigungen in dieser Zeit qualitativ denjenigen entsprechen, die in der eigentlichen Störungsphase auftreten und daß die Unterschiede nur durch ein verschiedenes Ausmaß der Störung bedingt sind. In diesem Fall sind Rückschlüsse von den in der zweiten grünen Periode festzustellenden Beeinträchtigungen auf solche in der eigentlichen Störungsphase wohl möglich.

Im Verlauf dieser Untersuchungen hat sich gezeigt (SCHÖTZ 1955, 1956), daß die Chloroplasten in einer bestimmten Stufenfolge degenerieren, wobei gleichzeitig die zunächst normale Photosyntheseleistung mehr und mehr absinkt, und daß es sich bei den Ausbleichungsvorgängen um eine photooxydative Zerstörung der Pigmente handelt, der — in Analogie zu ähnlichen Vorgängen bei Chlorellamutanten — eine erhebliche allgemeine Störung des Stoffwechsels vorausgehen dürfte (KANDLER u. SCHÖTZ 1956).

Eine Weiterverfolgung dieser Probleme, etwa durch eine eingehende Analyse der an den Chloroplasten zu beobachtenden morphologischen Veränderungen und der an den Pigmenten vor sich gehenden chemischen Umsetzungen, erscheint aber erst dann sinnvoll, wenn innerhalb der Oenotheren wenigstens bis zu einem gewissen Grad die Erscheinungsformen und die Ausprägungsmöglichkeiten dieser Ausbleichungsvorgänge bekannt sind. Erst dann läßt sich ein Überblick über den ganzen Fragenkomplex gewinnen, der zeigen muß, ob mehrere, und gegebenenfalls wie viele, solcher Typen periodischer Ausbleichungsvorgänge vorkommen und ob diese Typen völlig isoliert voneinander stehen oder sich

unter bestimmten Voraussetzungen auseinander entwickeln lassen. Aus der Kenntnis der Formen ergibt sich dann auch erst die Möglichkeit, zu erkennen, an welcher Stelle zukünftige plastidenmorphologische und physiologische Untersuchungen vorteilhaft einzusetzen haben.

Leider finden sich in der Literatur über *Oenothera* kaum Angaben über solche Ausbleichungserscheinungen, so daß kein anderer Weg bleibt, als alle überhaupt möglichen Oenotherenbastarde züchterisch wieder neu herzustellen und zu untersuchen. Bei etwa 40 verschiedenen Oenotherensippen, die sich aus unseren Kulturen (diese sind ein wertvolles Geschenk von Herrn Professor RENNER) für diese Untersuchungen eignen, sind dabei etwa 1500 Kreuzungen durchzuführen und ebenso viele Bastardsippen aufzuziehen. Diese Arbeit erstreckt sich zwangsläufig über Jahre. Es haben sich aber schon jetzt, nachdem etwa 400 Formen bearbeitet wurden, mehrere verschiedene Ausbleichungstypen feststellen lassen, und ihr Vergleich hat bereits eine Gliederung der gesamten Erscheinungsformen möglich gemacht, so daß eine Darstellung auch vor dem völligen Abschluß der Arbeiten gerechtfertigt erscheint.

Bei allen hier in Frage stehenden Betrachtungen wird vorausgesetzt, daß die Plastiden genetische Kontinuität besitzen und daß sie selbständige Elemente der genetischen Konstitution sind (RENNER 1934; vgl. auch SCHÖTZ 1958). Darin stimmen auch HEITZ und MALY völlig mit mir überein. Der bei SCHÖTZ 1958 angeführte Gegensatz zwischen den Angaben STRUGGERS (1950, 1953, 1954) und den Ergebnissen lichtoptischer Untersuchungen von HEITZ und MALY (1953) bezüglich der Entstehung der Lamellenstruktur in den Chloroplasten berührt keineswegs, wie von einigen Lesern angenommen wurde, die allen drei Autoren gemeinsame Überzeugung von der genetischen Kontinuität dieser Partikel.

I. Die verschiedenen Typen der periodischen Ausbleichung

Wie erwähnt, entsteht jene Buntheit der Pflanzen, die durch die zu besprechenden periodischen Ausbleichungserscheinungen hervorgerufen wird, nicht dadurch, daß zwei verschiedenartige Plastidensorten (Plastome) in ein und derselben Pflanze vorhanden sind und mit dem Genom nicht gleichartig reagieren, sondern dadurch, daß ein und dasselbe Plastom zu verschiedenen Zeiten mit dem gleichen Genom verschieden gut harmoniert. Sehr häufig zeigt sich diese Art der Buntheit besonders gut an den Keimblättern. Sie ist dort am besten dann zu erkennen, wenn die jeweils betrachtete Pflanze entweder nur die eine ausbleichende Plastidensorte enthält oder wenn eine etwa vorhandene zweite, die grün bleibt, möglichst in einem einzigen, gegenüber der Gesamtfläche kleinen Areal konzentriert ist. Ist das nicht der Fall und treten maculate Keimblätter auf, in denen sich die Gewebe, welche die verschiedenartigen Plastidensorten enthalten, mehr oder weniger durchdringen, dann überlagern die mit Bastardscheckung bezeichneten Phänomene die an einer Plastidensorte etwa auftretenden periodischen Ausbleichungserscheinungen und entziehen diese der Beobachtung. Man muß also versuchen, die Herstellung der Bastarde so zu lenken, daß sie möglichst nur eine Plastidensorte enthalten.

Nun verhalten sich die einzelnen Oenotherenarten bezüglich der Durchsetzungsfähigkeit ihrer Plastiden in den Bastarden recht verschieden. Es gibt (SCHÖTZ 1954) „starke" Arten, die ihre Plastiden in den von ihnen ausgehenden Bastarden gut zur Wirkung kommen lassen, und man kennt „schwache" Arten,

deren Plastiden stets mehr oder weniger stark verdrängt werden. Verwendet man eine starke Art (etwa *Oe. hookeri*) als Mutter, so erhält man in den meisten Fällen Bastarde, die ausschließlich oder zum größten Teil nur deren Plastiden enthalten; nimmt man sie als Vater, so sind nur bei der Benützung einer ebenfalls starken Mutter (z. B. *Oe. lamarckiana*) Bastarde zu erwarten, die ausschließlich oder doch zur Hauptsache die Plastiden der letzteren besitzen; Bastarde, in denen so große Flächen mit väterlichen Plastiden besetzt sind, daß etwaige an ihnen auftretende Ausbleichungsvorgänge deutlich erfaßt werden können, erhält man nur gelegentlich, wenn eine ganz schwache Art (z. B. *Oe. atrovirens*) als Mutter einem starken Vater gegenübersteht. Schwache Arten als Mütter liefern nur mit ebenfalls schwachen Vätern Nachkommen, die im wesentlichen die Plastiden der Mutter enthalten; mit starken Vätern gekreuzt führen sie, wenn die Plastidensorten verschieden reagieren, meist zu stark gescheckten Individuen; als Väter sind sie gut verwendbar gegenüber mittelstarken (z. B. *Oe. biennis*) und starken Arten, da sie ihre Plastiden dann kaum zur Geltung bringen können und infolgedessen Bastarde mit einem einheitlichen Plastom entstehen lassen.

Diese Verhältnisse der Plastidenkonkurrenz muß man kennen, um sich bei der Fülle der Arten überhaupt darüber klarzuwerden, an welchen Stellen Ergebnisse erwartet werden können, die für das gegenwärtige Problem wichtig sind.

Bei einer Anzahl von Bastarden sind in der ersten Generation die Keimblätter stets stark maculat. Dann können, wie erwähnt, etwaige periodische Ausbleichungserscheinungen an den gestörten Plastiden nicht oder nur sehr schwer erfaßt werden. Da es aber in der späteren Entwicklung der Pflanzen stets zu einer Entmischung der Plastiden kommt (BAUR 1909; RENNER 1936; SCHÖTZ 1952, 1954), so kann man in der zweiten Generation diese Pflanzen mit einheitlichen Plastiden ausstatten, wenn man Blüten auf Zweigen, die nur die gestörte Plastidensorte enthalten, selbstet. Das ist natürlich nur dann sinnvoll, wenn sich die Bastarde bezüglich ihres Genoms, ohne Mendelsche Rekombination, identisch reproduzieren, wie etwa *Oe. (biennis* × *lamarckiana) albivelutina* oder *Oe. (atrovirens* × *biennis) pictirubata.*

1. Der albivelutina-Typ (Abb. 22c, AcIII1)

Ein bekanntes Beispiel für diesen Typ ist *Oe. (biennis* × *lamarckiana) albivelutina* mit *lamarckiana*-Plastiden[1] (57/87, 57/88; vgl. RENNER 1952, 1957; SCHÖTZ 1958b; W. STUBBE 1958). Die Pflanzen sind hier nach der Keimung völlig normal grün und behalten diese Farbe auch zunächst bei. Erst nach 8—10 Tagen setzt die Disharmonie zwischen Kern und Plastiden ein, auf Grund derer alle neu zuwachsenden Teile, das sind die basale Hälfte der Keimblätter und alle folgenden Laubblätter, blaß werden (Abb. 1). Die grüne apikale Hälfte der Kotyledonen sowie ein teilweise vorhandener schwach grüner Anflug an den Laubblättern reicht aber offenbar aus, um die Pflanzen langsam weiterwachsen zu lassen. Diese Ausbleichungsperiode dauert 2—3 Monate und klingt dann allmählich aus. Die Pflanzen ergrünen vom 11. oder 12. Laubblatt an zusehends und bleiben, auch wenn man sie aufs Feld verpflanzt, fast vollkommen ungestört grün. Sie schossen und blühen wie normal grüne Pflanzen bereits im ersten Jahr.

[1] Erst ab F_2 zu erhalten; vgl. den vorhergehenden Absatz.

Der periodische Ablauf der Störung ist also völlig eindeutig: Die erste grüne Periode ist kurz und umfaßt nur die ersten 10 Tage nach der Keimung; die anschließende Ausbleichungsperiode dauert, je nach den Außenbedingungen, Wochen und Monate; die zweite grüne Periode ist lang und reicht bis zum Vegetationsschluß.

Bezeichnend ist, daß bei den einzelnen Individuen kaum Schwankungen in der Ausprägung des Merkmals vorkommen. Das Einsetzen der Störung erfolgt jeweils im gleichen Alterszustand, und ihre Stärke ist

Abb. 1. *Oe. (biennis* × *lamarckiana) albivelutina* mit *lamarckiana*-Plastiden (Folgegeneration; nicht F_1)

im allgemeinen gleich. Eine größere Variation zeigt sich lediglich bezüglich des Zeitpunktes des Beginns der zweiten grünen Periode (s. oben). Charakteristisch ist ebenfalls, daß die Teile der Keimblätter, die einmal grün angelegt sind, von der nachfolgenden Störung völlig unbeeinflußt bleiben und diese nur jene Gewebe betrifft, welche während ihrer Wirksamkeit neu gebildet werden. Umgekehrt vermögen zumindest die gegen das Ende der Störungsperiode hin gebildeten blassen Blätter nachträglich mehr oder weniger kräftig zu ergrünen. Die Schädigung der Chloroplasten ist hier offenbar nicht in allen Fällen so stark, daß sie irreversibel geworden wäre.

W. Stubbe (1955) nennt solche Pflanzen *virescens*-Typen. Dieser Name kennzeichnet gut die Tatsache der Wiederergrünung der blassen Pflanzen, läßt aber den wohl ebenso wichtigen vorausgehenden Übergang von grün nach blaß unberücksichtigt.

Im mikroskopischen Bild ist die Ausbleichungsphase nicht nur gekennzeichnet durch eine vakuolige Degeneration der Chloroplasten, sondern auch durch eine Reduktion der Plastidenzahl je Zelle, die bis auf

3—1 zurückgehen kann (vgl. SCHWEMMLE u. Mitarb. 1938, SCHÖTZ 1954, W. STUBBE 1958). Im Zusammenhang damit kommt es auch zu einer Hemmung des Flächenwachstums der blassen Teile, die besonders dann deutlich hervortritt, wenn, wie in Abb. 2, die betreffende Pflanze noch eine zweite, nicht gestörte Plastidensorte enthält.

Wenn man die *albivelutina* neu durch Kreuzung aus den beiden Elternarten hergestellt hat und die geschilderten Ausbleichungsphänomene beobachtet[1], so liegt, wie bei SCHÖTZ u. REICHE erwähnt, der Gedanke nahe, daß es sich dabei um eine einmalige Störung infolge der durch die

Abb. 2. *Oe. (lamarckiana* × *hookeri) velutihookeri* (F_1) mit *lamarckiana*-Plastiden (blaß) und *hookeri*-Plastiden (grün). Hemmung des Flächenwachstums in den blassen Teilen. Man vergleiche rechte und linke Hälfte des mit Pfeil bezeichneten Keimblattes

Bastardierung bewirkten Neukombination eines Genoms mit einem Plastom handelt, der dann eine dauernde physiologische Anpassung der beiden Partner folgt. Daß dies nicht zutrifft, zeigen die aus Selbstungen hervorgehenden Nachkommen, in denen, wenn sie *lamarckiana*-Plastiden besitzen, die Störung jeweils in genau derselben Weise wieder auftritt (s. RENNER 1952). Es handelt sich dabei also eindeutig um eine periodische Veränderung des Stoffwechselgeschehens im Lebenscyclus jedes Individuums.

Albivelutina ist komplexheterozygot und halbheterogam *(albicans* ♀, *velans* ♀♂*)*. In der Diakinese zeigt sie einen 14er-Ring. Die *velans* · *velans* Embryonen treten nur als taube Samen auf (RENNER 1916, 1917). Es entstehen auf diese Weise stets wieder, abgesehen von Unterschieden in der Blütengröße, identische *albivelutinae* als Nachkommen.

Andere zu diesem Typ gehörende Formen sind:

Oe. (lamarckiana × *hookeri) velutihookeri* mit *lamarckiana*-Plastiden (SCHWEMMLE u. Mitarb. 1938, SCHÖTZ 1954; s. auch Abb. 2); die Störung ist bei ihr noch etwas markanter als bei der *albivelutina*.

[1] Soweit das in der F_1 möglich ist (s. oben).

Oe. (lamarckiana × *bauri) velutiundata* mit *lamarckiana*-Plastiden (5787, 5788, 5791, 5792); die Störung ist hier ein wenig abgemildert, die blassen Teile sind stets schwach grün, und die zweite grüne Periode setzt früher ein, so daß die Pflanzen bereits nach zwei Monaten ganz normal grün geworden sind.

Oe. (rubricaulis × *lamarckiana) tinctivelutina* mit *lamarckiana*-Plastiden (58131, 58135); die Störung ist stark von den nicht geschädigten Plastiden der Mutter überlagert. In der F_2 erfolgt Aufspaltung.

Oe. (syrticola × *lamarckiana) rigivelutina* mit *lamarckiana*-Plastiden (58243, 58245); Angaben wie bei *tinctivelutina*.

Oe. (biennis × *suaveolens* Weißherz) *albiflava* mit *biennis* = *suaveolens*-Plastiden (58188). Bei ihr tritt im Sommer nochmal eine längere zweite Störungsperiode auf (vgl. W. Stubbe 1955).

2. *Der laxidilatata-Typ (Abb. 22c, AcI2*, AcI2**, AcI1)*

Bei *Oe. (bauri* × *argillicola) laxidilatata* mit *bauri*-Plastiden (5701) kommen die Pflanzen, wie üblich, mit hell-gelbgrünen Keimblättern aus der Samenschale und werden im Verlauf von 1 bis 2 Tagen völlig normal grün. In dieser ersten grünen Periode verharren sie 6 bis 10 Tage. Dann setzt die Ausbleichungsphase ein, und die an der Basis der Keimblätter neu zuwachsenden Teile vermögen, wie bei der *albivelutina*, nicht mehr zu ergrünen. Dadurch erhalten die Kotyledonen an ihrer Basis zunächst einen schmalen hellen Rand, der sich mehr und mehr verbreitert. Die Phase der Disharmonie zwischen Kern und Plastiden dauert aber nur kurz, und bereits 4 bis 5 Tage nach dem Beginn der Störung setzt schon die zweite grüne Periode ein. Der basale Zuwachs der Keimblätter wird wieder grün, und es entsteht dadurch, zunächst dicht an der Keimblattbasis, eine weißliche Querbinde, die durch weiteren Zuwachs aus dem basalen Meristem mehr und mehr gegen die Blattmitte vorrückt. Diese Querbinden erreichen etwa in der Zeit vom 17. bis zum 22. Tag nach dem Pikieren ihre schönste Ausbildung (Abb. 3a; Farbbilder bei Schötz 1958b).

Bis zu dieser Zeit hat es den Anschein, als wären überhaupt nur die schmalen Bindenzonen geschädigt worden und die übrigen Teile der Keimblätter völlig unbeeinflußt geblieben. In Wirklichkeit wird aber auch die grüne Spitzenzone von der Schädigung miterfaßt. Dies zeigt sich bei einem Teil der Pflanzen darin, daß der basale Keimblattzuwachs in der zweiten grünen Periode dunkler ist als die Keimblattspitze, weil diese während der Ausbleichungsphase unmerklich ein wenig aufgehellt wurde. Meist setzt aber die Ausbleichung der apikalen Keimblatthälfte erst dann ein, wenn die Querbinden bereits einige Zeit fertig ausgebildet waren (vgl. Abb. 3a). Infolge dieser sekundären Ausbleichung erhalten die Keimblätter dann drei verschiedenfarbige Abschnitte, eine dunkelgrüne Basis, eine hellgelbe bis weiße Querbinde und eine hellgrüne Spitzenzone (Abb. 3b). Diese letzte bleicht im Laufe der Zeit aber noch weiter aus, und auf diese Weise wird der Übergang von der Querbinde

zur Spitzenregion mehr und mehr verwaschen. Schließlich erreicht die Spitzenzone die Helligkeit der Querbinde, so daß die Keimblätter nur noch zwei verschiedenfarbige Areale, eine grüne Basis und eine helle, fast weiße apikale Hälfte besitzen (Abb. 3c, Abb. 22c, AcI2*).

Im Höhepunkt der Querbindenausbildung sind immer noch eine Anzahl von Pflanzen (bei der Aussaat 5701 waren es 19%) gleichmäßig

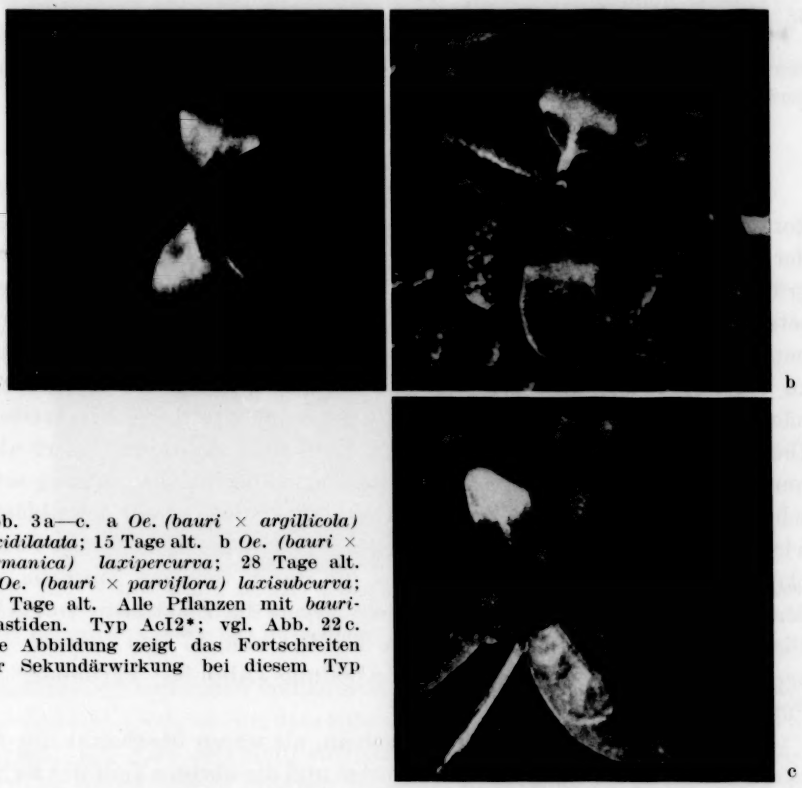


Abb. 3a—c. a *Oe. (bauri* × *argillicola) laxidilatata*; 15 Tage alt. b *Oe. (bauri* × *germanica) laxipercurva*; 28 Tage alt. c *Oe. (bauri* × *parviflora) laxisubcurva*; 38 Tage alt. Alle Pflanzen mit *bauri*-Plastiden. Typ AcI2*; vgl. Abb. 22c. Die Abbildung zeigt das Fortschreiten der Sekundärwirkung bei diesem Typ

grün und anscheinend von der Störung ausgenommen. Daß diese auch hier vorhanden ist, wird erst einige Zeit später deutlich. Dann zeigt sich nämlich, daß die apikalen Teile der Keimblätter, genau so wie das oben für einen Teil der Querbinden-Pflanzen geschildert wurde, unmerklich ein wenig aufgehellt worden sind und daß der basale Zuwachs dunkler ist als das bereits vorhandene Gewebe. Die Blätter erhalten also zu einer hellgrünen Spitzenregion eine dunkelgrüne Basis, die schließlich die ganze basale Blatthälfte einnimmt (Abb. 4). Auch hier setzt sich die Ausbleichung der Spitzenzone noch weiter fort, und die Blätter erreichen im Endzustand das gleiche Aussehen wie die Querbindenpflanzen (Abb. 3c, Abb. 22c, AcI2**).

Das erste Laubblatt entsteht etwa zwischen dem 10. und 13. Tag, also ungefähr während der Übergangszeit von der Störungsperiode zur zweiten grünen Periode. Es ist grün und nur ab und zu anfänglich ein wenig aufgehellt. In der Folge entsteht etwa in jeder Woche ein neues Blatt, so daß in der 8. Woche sieben bis acht Laubblätter gebildet sind. In der Jugend sind alle schön grün; im Alter werden sie ein wenig heller und verwaschen gelbfleckig, ein Zeichen dafür, daß hier auch in der zweiten grünen Periode die Harmonie zwischen Kern und Plastiden

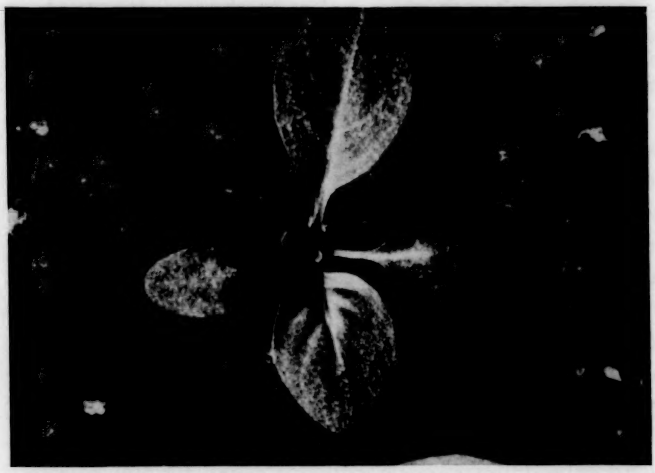


Abb. 4. *Oe. (bauri × silesiaca) laxisubcurva* mit *bauri*-Plastiden; 25 Tage alt. Typ AcI2**; vgl. Abb. 22c; beginnende Sekundärwirkung

keine vollständige ist. Die Pflanzen sind aber ziemlich kräftig und können aufs Feld gebracht werden, ohne daß sie dort durch die direkte Sonneneinstrahlung zu sehr geschädigt werden. Im Alter von vier Monaten (Juni) waren sie dort grün, teilweise ein wenig verwaschen gelbfleckig; einen Monat später zeigten nur noch einzelne Blätter gelbe Spitzen. Die Pflanzen blieben jedoch bedeutend schwächer als normalgrüne oder als etwa die in der Störungsphase viel blassere (Abb. 1) und nun vollkommen erholte *albivelutina*. Im Gegensatz zu dieser kamen sie auch im ersten Jahr nicht zum Schossen und Blühen.

Andere zu diesem Typ gehörende Formen sind:

Oe. (bauri × syrticola) laxicurva mit *bauri*-Plastiden (57146).

Oe. (bauri × parviflora) und *Oe. (bauri × silesiaca) laxisubcurva* mit *bauri*-Plastiden (57109, 57133, 57134).

Oe. (bauri × ammophila) und *(bauri × germanica) laxipercurva* mit *bauri*-Plastiden (5610a, 5747).

Oe. (bauri × rubricuspis) laxipraecurva mit *bauri*-Plastiden (57129, 57130).

Diese Bastarde sind der *laxidilatata* weitgehend ähnlich und weisen ihr gegenüber, sowie unter sich, nur graduelle Unterschiede auf. Eine

Tabelle 1. *Verteilung der bauri-Bastarde auf die verschiedenen Entwicklungsformen*

Bastard	Entwicklungszustand der Pflanzen am 20. Tag nach dem Pikieren			
	Einheitlich hellgrün %	Basis blaß %	Querbinde ausgebildet %	Querbinde fehlt; apikale Keimblattzone etwas heller als die Basis %
Oe. (bauri × rubricuspis) laxipraecurva .	8,5	—	85	6,5
Oe. (bauri × argillicola) laxidilatata . .	—	—	81	19
Oe. (bauri × ammophila) laxipercurva .	—	—	65	35
Oe. (bauri × syrticola) laxicurva	5	—	22	73
Oe. (bauri × silesiaca) laxisubcurva . .	2	2	5	91

Verschiedenheit betrifft dabei die unterschiedliche Lage des Schwerpunktes auf einer der beiden Ausprägungsmöglichkeiten der Störung innerhalb einer Aussaatreihe. Dabei muß allerdings noch dahingestellt bleiben, wie weitgehend diese Änderung der Störungswirkung von Außenfaktoren (z. B. Reifegrad der Samen, Temperaturverhältnisse bei der Aufzucht der Keimlinge) beeinflußt wird. Wie sehr sich die genannten Bastarde in der Bevorzugung einer der beiden Störungsformen unterscheiden können, zeigt die Tabelle 1. Die übrigen Unterschiede sind für die gegenwärtige Betrachtung belanglos und bei SCHÖTZ 1958b näher beschrieben. Eigens zu erwähnen ist nur noch, daß besonders bei der *laxisubcurva* auch in der zweiten grünen Periode an den Rosettenblättern älterer Pflanzen gelbe Spitzen oder Querbinden auftreten. Ihre Anordnung (bei einer Reihe von drei aufeinanderfolgenden Blättern beim ältesten an der Basis, beim mittleren in der Blattmitte, beim jüngsten an der Spitze) zeigt dabei, daß es sich grundsätzlich um eine Wiederholung der ersten Störungsphase handelt, die diese Blätter in verschiedenen Stadien ihrer Entwicklung betroffen hat. Die Periodizität der Ausbleichung wird dadurch besonders augenfällig.

Dem *laxidilatata*-Typ gehören auch eine Reihe von Bastarden an, die nicht *Oe. bauri* zur Mutter haben. Eine Anzahl von ihnen besitzt den väterlichen Komplex *rubens*, entweder aus *Oe. biennis* oder aus *Oe. rubricaulis*.

Es sind dies:

Oe. (cockerelli × biennis) und *(cockerelli × rubricaulis) curtirubata* mit *cockerelli*-Plastiden (5884, 5885; Abb. 5).

Oe. (coronifera × biennis) und *(coronifera × rubricaulis) quaestirubata* mit *coronifera*-Plastiden (5888, 5889).

Oe. (franciscana × biennis) und *(franciscana × rubricaulis) franciscorubata* mit *franciscana*-Plastiden (58100, 58101).

Oe. (mollis × biennis) und *(mollis × rubricaulis) simulirubata* mit *mollis*-Plastiden (58140, 58151).

Oe. (strigosa × biennis) und *(strigosa × rubricaulis) depressirubata* mit *strigosa*-Plastiden (58182, 58183).

Sie sind alle dadurch charakterisiert, daß auch in der ersten grünen Periode die Keimblätter nicht satt- oder dunkelgrün sind, sondern stets hellgrün bis hell-gelbgrün. Gleichwohl ist die oft sehr breite weißliche Querbinde gut zu erkennen. Die Keimblattbasis ist meist ähnlich hellgrün wie die Spitzenzone, höchstens um einen kleinen Ton dunkler (Abb. 5). Zu einer sekundären Ausbleichung der apikalen Keimblattteile, wie bei *laxidilatata*, scheint es nicht zu kommen, und die Färbung der Spitzenzone ist 8 Wochen nach dem Pikieren ziemlich unverändert

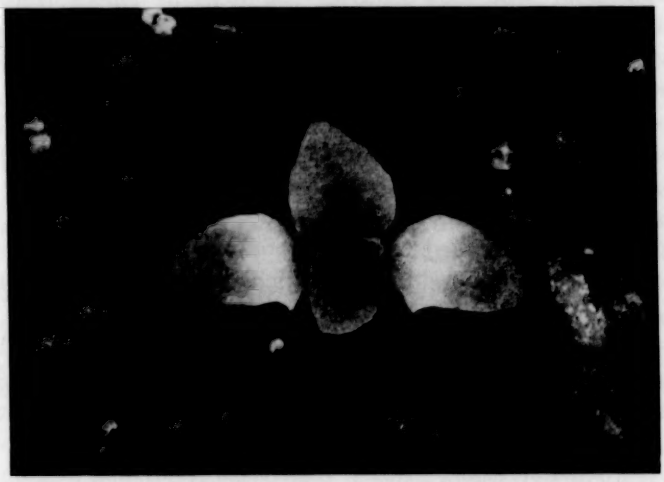


Abb. 5. *Oe. (cockerelli × biennis) curtirubata* mit *cockerelli*-Plastiden; 55 Tage alt. Typ AcI1; vgl. Abb. 22 c

(vgl. Abb. 3 c und Abb. 5). Nur bei der *quaestirubata* bleichen die Spitzenzonen oft noch weiter aus; hier kommt es dann auch häufig zum Ausfall der Querbindenbildung, wie er auch bei einem Teil der *laxidilatatae* auftrat (s. oben).

Väterliche *(biennis-* oder *rubricaulis-)* Plastiden kommen in den Pflanzen von *franciscorubata*, *depressirubata* und *simulirubata* des öfteren vor; sie bilden fast stets sehr kleine, zusammenhängende dunkelgrüne Areale, die gut gegen die übrigen Teile abzugrenzen sind. Wenn diese Areale die Keimblätter als Streifen von der Spitze bis zur Basis durchziehen, so durchqueren sie die Querbinden völlig unbeeinflußt. Dies zeigt besonders deutlich, wie sehr es sich bei dieser Art der Ausbleichung nur um die Wechselwirkung zwischen einem bestimmten Zellkern und einer speziellen Plastidensorte handelt und nicht etwa um eine allgemeine physiologische Veränderung des Zellmilieus, von der alle vorhandenen Plastiden gleichermaßen betroffen werden müßten.

Die Pflanzen überstehen die Störungsperiode recht gut, trotz der erwähnten allgemeinen Helligkeit der grünen Gewebe auch in der ersten

und der beginnenden zweiten grünen Periode, welche die Photosyntheseleistung von vornherein ziemlich herabsetzen dürfte. Nur bei der *depressirubata* gingen beinahe 50% der Individuen während der Störungsphase ein. Eine gewisse Photolabilität ist auch in der zweiten grünen Periode noch vorhanden, und die Blätter werden schon bald an den Spitzen gelbfleckig. Kultur in schwachem Licht vertieft die Färbung wesentlich. Die im Schwachlicht gezogenen Pflanzen zeigten aber z. T. deutlich am ersten und zweiten Laubblatt je eine helle Querbinde, die am letzteren (im Vergleich zu Blatt 1) weit gegen die Spitze hin verschoben war. Dies zeigt wieder, wie schon bei der *laxisubcurva* erwähnt, daß sich die Störungsphase auch während der weiteren Entwicklung der Pflanzen wiederholen kann.

Auf dem Feld reagieren die älteren Pflanzen unterschiedlich. Die Rosetten von *curtirubata* und *simulirubata* sind im Juli (Aussaat Ende Januar) kräftig und grün und nur an den Spitzen der älteren Blätter etwas gelbfleckig; *franciscorubata* als anderes Extrem mußte drei Wochen nach dem Auspflanzen wieder ins Gewächshaus zurückgebracht werden, da die Individuen das direkte Sonnenlicht nicht vertragen. Im Haus zeigen sie kaum Schädigungen.

Der *laxidilatata*-Typ hat in seiner charakteristischen Form (darunter verstehen wir die Querbindenpflanzen von *laxidilatata* selbst) Ähnlichkeit mit dem *albivelutina*-Typ (vgl. Abb. 22c). Wie dort sind die Keimblätter in ihrer Anfangsentwicklung normal grün, und erst wenn der weitere Aufbau der Blätter durch das basale Meristem beginnt, setzt sprunghaft die Störungsphase ein. Ihr, im Gegensatz zur *albivelutina*, frühes Ende bedeutet nur eine unbedeutende Variation. Der Hauptunterschied liegt darin, daß die Störung nicht nur die während ihrer Wirksamkeit neu gebildeten Gewebe allein betrifft, sondern auch die schon vorher grün angelegten. Daß es dennoch, zumindest zeitweise, zu einer verschiedenen Färbung der beiden geschädigten Teile kommt, beruht wohl darauf, daß in den Plastiden der neu gebildeten Blatteile der Aufbau der Pigmente und der sie tragenden Strukturen von vornherein weitgehend verhindert wird (Primärwirkung), während in den bereits vorhandenen Geweben die Farbstoffe und ihre Trägersysteme erst allmählich zerstört werden (Sekundärwirkung).

Die sekundäre Zerstörung bereits ausgebildeter Pigmente und Zellstrukturen wurde für andere Typen der Ausbleichung schon bei Schötz und Reiche erwähnt. Dort war sie nicht weiter auffällig erschienen, da sie etwa gleichzeitig mit der Störung des Neuzuwachses einsetzte und die Dauer der Störung lang genug war (2—6 Wochen), um schwere Schädigungen aller Teile verstehen zu lassen. Hier, bei der *laxidilatata*, sind auf dem Höhepunkt der Querbindenausbildung, wenn die Störung längst wieder ihr Ende gefunden hat, Spitze und Basis der Keimblätter meist

noch ziemlich gleichartig gefärbt, und erst später läßt die fortschreitende Ausbleichung des Spitzenteils der Blätter erkennen, daß die durch die kurzzeitige Disharmonie zwischen Kern und Plastiden wohl bewirkte Stoffwechselstörung ausgereicht hat, um auch die bereits vorhandenen Gewebe zu schädigen. Dies könnte dadurch erklärt werden, daß die kurzzeitige Veränderung des Stoffwechsels in der Störungsphase in den betroffenen Zellen Reaktionsprodukte hinterläßt, welche die Denaturierung der Chloroplasten auch dann noch fortsetzen, wenn die Störung selbst längst wieder zu Ende ist. Es wäre aber auch möglich, daß die Störungsphase in den apikalen Teilen der Keimblätter noch weiter wirkt, wenn die jüngeren Gewebe sich bereits in der zweiten grünen Periode befinden. Bei der auf S. 381 versuchten Aufstellung einer Gliederung der Ausbleichungsphänomene wurde die erste Möglichkeit angenommen, ohne daß deshalb die zweite geleugnet werden sollte.

Die abweichenden *laxidilatata*-Formen (ohne Querbinden) erklären sich bei dieser Annahme dann so, daß bei ihnen die Störungsperiode nur so kurz andauert, daß die Primärwirkung auf die neugebildeten Zellen nicht mehr erkennbar wird und nur noch die Sekundärwirkung sichtbar ist. Die oben erwähnten *rubens*-Verbindungen stehen (abgesehen von der in der ersten und zweiten grünen Periode allgemein auftretenden schwachen Photolabilität) der *albivelutina* am nächsten, indem bei ihnen uur die Primärwirkung der Störung zu erkennen ist.

Der *laxidilatata*-Typ in der querbindenfreien Abart, aber auch meist ohne weitergehende Sekundärwirkung, scheint übrigens weiter verbreitet zu sein. Man findet bei einer Reihe von grünen Bastarden immer wieder Keimlinge, deren apikale Hälfte nach einiger Zeit heller grün ist als die basale. Daß einige dieser Abweicher dann, noch weitergehend, sogar Querbinden besitzen, macht den Zusammenhang deutlich. Ich beobachtete diese Formen in meinen diesjährigen Aussaaten bei *Oe. (rubricaulis* × *ammophila)* und *(rubricaulis* × *germanica) tinctipercurva* (5851, 5853) mit *rubricaulis*-Plastiden (81 Pflanzen von 174); bei *Oe. (biennis* × *atrovirens) albiflexa* (5862) mit *biennis*-Plastiden (7 Pflanzen von 76); bei *Oe. (rubricaulis* × *atrovirens) tinctiflexa* (5863) mit *rubricaulis*-Plastiden (96 Pflanzen von 109); bei *Oe. (rubricaulis* × *rubricuspis) tinctipraecurva* (58173) mit *rubricaulis*-Plastiden (alle Pflanzen von 85). Hier scheinen wohl nur Außeneinflüsse (Reifezustand der Samen o. ä.) für das Eintreten der Störung verantwortlich zu sein.

3. Der hookericurva-Typ (Abb. 22c, AcII2)

Dieser Typ tritt auf bei *Oe. (hookeri* × *syrticola) hookericurva* mit *hookeri*-Plastiden (R33/53) und wurde bereits in anderem Zusammenhang bei Schötz und Reiche beschrieben. Die Sämlinge werden nach der Keimung, wie üblich, schnell grün. Die Störungsphase beginnt erst in der zweiten Woche mit einer allgemeinen Ausbleichung der Kotyledonen (Sekundärwirkung), und etwa gleichzeitig wird auch der basale Neuzuwachs blaß (Primärwirkung). Die zweite grüne Periode beginnt erst während der Entstehung der ersten beiden Laubblätter (etwa in der fünften Woche), die infolgedessen eine grüne Basis erhalten. Alle weiteren Blätter werden grün. Die Pflanzen sterben während der Störungsperiode in Massen ab. Sie sind auch in der zweiten grünen Periode nur unter Schwachlichtbedingungen lebensfähig.

Zu diesem Typ gehört noch *Oe. (bauri × atrovirens) laxiflexa* mit *bauri*-Plastiden (R 34/53).

Neuerdings hat sich gezeigt, daß (ähnlich wie bei *laxidilatata*; s. unter 2) auch *hookericurva* eine zweite Reaktionsmöglichkeit besitzt (58240). Diese beruht auf einer Vorverlegung der Störungsphase und, damit zusammenhängend, auf einer Verkürzung der Primärwirkung (Abb. 22a, AbI2**).

4. Der pictirubata-Typ (Abb. 22b, AbII2, AbII2**)*

Der Typ tritt völlig gleichartig auf bei *Oe. (atrovirens × biennis)* und *(atrovirens × rubricaulis) pictirubata* (R 24/53) sowie bei *Oe. (parviflora × biennis)* und *(parviflora × rubricaulis) auctirubata* (R 22/53), sämtliche mit *biennis* oder (*das* ist wohl dasselbe) *rubricaulis*-Plastiden. Er ist bereits bei SCHÖTZ und REICHE erwähnt. Die Sämlinge werden nach der Keimung schnell grün. Schon bald, sehr deutlich vom fünften Tag nach der Keimung ab, setzt aber die Störungsphase ein, und die Ränder der Kotyledonen werden blaß (Primärwirkung). Sodann schreitet die Ausbleichung (Sekundärwirkung) weiter ins Blattinnere vor, und gleichzeitig wird auch der Neuzuwachs an der Basis blaß. Die Keimblätter sind auf diese Weise zuerst blaß gesäumt und werden dann vollständig hell. Die zweite grüne Periode beginnt, wie bei der hookericurva, im Laufe der Bildung der ersten beiden Laubblätter, die infolgedessen wieder eine grüne Basis erhalten. Die folgenden Blätter sind grün. Die Pflanzen sterben während der Störungsphase im Massen. In der zweiten grünen Periode sind sie nur unter Schwachlichtbedingungen lebensfähig.

Eine Variation des Typs zeigt sich bei *Oe. (biennis × suaveolens* Weißherz[1]) und (*rubricaulis × suaveolens* Weißherz[1]) *rubiflava* (58188, 58189) mit *biennis*- und (=) *suaveolens*-Plastiden. Die Sämlinge sind hier von Anfang an hellgrün bis gelbgrün; die erste grüne Periode ist also nicht ganz störungsfrei. Durch die Primärwirkung der Störungsphase (beginnend etwa am siebenten Tag) erhalten die Kotyledonen einen deutlich unterscheidbaren hellgelben Rand. Wie bei pictirubata dringt die Ausbleichung dann sekundär weiter ins Blattzentrum vor, so daß die Lamina einheitlich weißlichgelb wird. Nach etwa drei Wochen beginnt die zweite grüne Periode, in die auch noch ein Teil des basalen Neuzuwachses fällt. Die Keimblätter erhalten eine grüne Basis, und alle weiteren Blätter werden grün. Die Störung endet also früher als bei *pictirubata*. Die zweite grüne Periode ist ebenfalls nicht störungsfrei: Auf dem Feld sind die Blätter nur in der Jugend grün und werden im Alter zunehmend verwaschen gelbfleckig; im Gewächshaus setzt die Gelbfleckigkeit erst später ein und ist bedeutend schwächer.

5. Der hookeriflexa-Typ (Abb. 22d, Bb)

Der Typ tritt auf bei *Oe. (hookeri × atrovirens) hookeriflexa* mit *hookeri*-Plastiden (R 21/53, R 23/53). Auch er ist bei SCHÖTZ und REICHE schon erwähnt. Die erste grüne Periode entfällt hier völlig, und die Pflanzen kommen infolgedessen mit gänzlich blassen Keimblättern aus der Samenschale. Die Störungsphase dauert nach der Keimung noch etwa 3 Wochen. Während dieser Zeit gehen die Pflanzen massenhaft ein. In der vierten Woche entsteht das erste Laubblatt, das, wie auch ein noch neu zuwachsender Rand an der Basis der Keimblätter, grün wird. Auch die folgenden Blätter sind grün. Die Pflanzen können aber nur unter Schwachlichtbedingungen kultiviert werden.

Zu diesem Typ gehören noch:

Oe. (lamarckiana × syrticola) veluticurva mit *lamarckiana*-Plastiden (58244, 58246). Die Sämlinge sind kurz nach der Keimung recht verschieden groß und

[1] Vgl. W. STUBBE 1955.

auch nicht gleich gefärbt. Die größten sind hellgrün, die kleineren gelbgrün, die kleinsten cremefarben. Die Störungsphase betrifft die Pflanzen also völlig ungleichmäßig. Dies kommt anscheinend bei *lamarckiana*-Abkömmlingen des öfteren vor (vgl. *Oe. lamarckiana mut. vetaurea*, Abschnitt 7). Die zweite grüne Periode setzt in der zweiten bis vierten Woche ein, am frühesten bei den hellgrünen, am spätesten bei den cremefarbenen Individuen. Ihr Beginn fällt mit dem Einsetzen der Tätigkeit des Meristems an der Keimblattbasis zusammen. Der basale Neuzuwachs der Kotyledonen und die folgenden Blätter werden infolgedessen grün (Abb. 6). Da die anfänglich hellgrünen Formen während ihrer weiteren Entwicklung in den apikalen Keimblatteilen zum Teil noch nach gelbgrün ausbleichen, so könnte an einen Zusammenhang mit den Abweichern des *hookericurva*-Typs

Abb. 6. *Oe. (lamarckiana × syrticola) veluticurva* mit *lamarckiana*-Plastiden; 43 Tage alt. Typ Bb; vgl. Abb. 22 d

(Abb. 22 a, AbI2**) gedacht werden. Im Gewächshaus werden die älteren Blätter verwaschen gelbfleckig oder gelbspitzig, auf dem Feld werden sie von der Spitze her gelb und sterben ab.

Oe. lamarckiana mut. vetaurea (57/49, 58/37). Der Teil der Pflanzen, der von Anfang an cremefarben ist (Abb. 9). Vgl. Abschnitt 7.

6. Der rubiflexa-Typ (Abb. 22 d, Bc)

Die Sämlinge von *Oe. (biennis × atrovirens)* und *(rubricaulis × atrovirens) rubiflexa* mit *biennis*- oder *rubricaulis*-Plastiden (5862, 5863) kommen mit cremefarbenen Keimblättern aus der Samenschale. Die erste grüne Periode ist also, wie bei der *hookeriflexa* (5), ausgefallen. Alle Pflanzen sterben ab. Wenn sie aber zusätzlich noch *atrovirens*-Plastiden enthalten, die unter den gegebenen Bedingungen grün bleiben, so werden die blassen Teile von diesen miternährt, und die Pflanzen können sich weiter entwickeln. Es läßt sich dann feststellen, daß es in den blassen Arealen zu keiner Zeit zu einer Ergrünung kommt und daß die zweite grüne Periode ebenfalls ausgefallen ist.

Zu diesem Typ gehören noch:

Oe. (biennis × ammophila) und *(biennis × germanica) rubipercurva* mit *biennis*-Plastiden (5850, 5852).

Oe. (rubricaulis × ammophila) und *(rubricaulis × germanica) rubipercurva* mit *rubricaulis*-Plastiden (5851, 5853).

Oe. (rubricaulis × parviflora) rubisubcurva mit *rubricaulis*-Plastiden (58155).

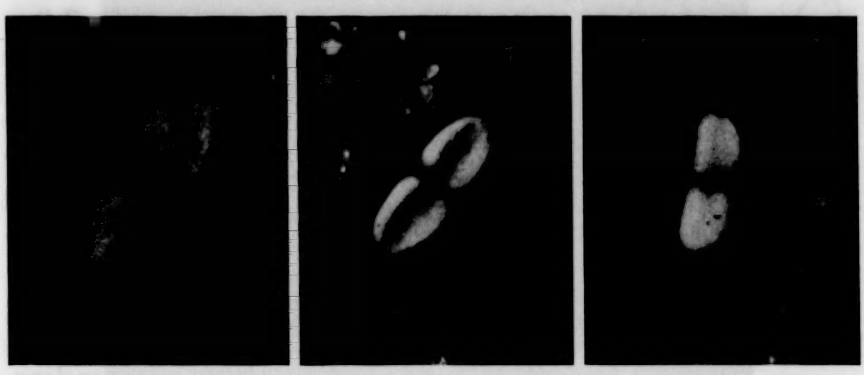
7. Oenothera lamarckiana mut. vetaurea (Abb. 21)

Hat sich bisher Bastardierung als ein Mittel erwiesen, um periodische Veränderungen in der Güte des Zusammenwirkens von Zellkern und Plastiden aufzuzeigen, und haben sich solche Veränderungen auch sporadisch wohl als Folge veränderter Außenbedingungen (s. S. 363) gezeigt, so läßt *Oe. lamarckiana mut. vetaurea* erkennen, daß auch als Wirkung einer Mutation solche periodische Veränderungen entstehen können. Verschiedenartige Vorgänge können also offenbar dasselbe Ergebnis hervorrufen. Das scheint darauf hinzudeuten, wie schon bei SCHÖTZ und REICHE erwähnt, daß periodische Veränderungen in der Harmonie zwischen Zellkern und Plastiden grundsätzlich auch schon bei den normal grünen Oenotheren auftreten, daß sie sich aber nach außen nur dann als Ausbleichungsvorgänge zu erkennen geben, wenn der Grad der weniger guten Zusammenarbeit einen bestimmten Grenzwert überschreitet. Diese Überschreitung des Grenzwertes kann jeder der drei genannten Faktoren bewirken. In dieser Sicht bedeutet das Auftreten der Ausbleichungen keine neue Reaktionsweise der Pflanzen, sondern nur die Verstärkung einer bereits vorhandenen.

Oe. lamarckiana vetaurea, bei der die Überschreitung des erwähnten Grenzwertes durch eine Mutation zustande kommt, wurde von SHULL (1921) als Genmutante von *Oe. lamarckiana* entdeckt und unterscheidet sich von der Normalform mit sattgelber Blumenkrone durch altgoldfarbene Petala. Infolge einer pleiotropen Wirkung des mutierten Gens ist mit der Änderung der Blütenfarbe aber auch eine Ausbleichung der Keimblätter verbunden, die von RENNER (1942) erstmalig erwähnt wird. Gegenüber den bisher besprochenen Typen bietet diese Ausbleichung einige Besonderheiten. Deshalb wurde sie eingehender untersucht, und ihr Studium zeigte dann den Weg zu einer allgemeinen Gliederung der bei den Oenotheren vorkommenden periodischen Ausbleichungserscheinungen.

a) Die äußere Ausprägung des Merkmals. In einer Aussaat von *lamarckiana vetaurea* verhalten sich nicht alle Pflanzen gleich, sondern diese weist alle möglichen Typen auf, von normal grünen bis zu völlig blassen (Abb. 7). Die Übergangsformen besitzen dabei an ihren im übrigen normalgrünen Keimblättern schmale hellgrüne oder schmale cremefarbene Ränder, welch letztere mit allen Abstufungen schließlich bei einzelnen Individuen so breit sein können, daß das grüne Gewebe nur noch eine mehr oder weniger strichförmige Zone in der Mittelachse der

Keimblätter bildet (Abb. 7b). Dieser Farbverschiedenheit entspricht auch ein Größenunterschied; denn die grünen Pflanzen sind schon am zweiten Tag nach dem Pikieren mit Gesamtausmaßen von $6 \times 2{,}5$ mm wesentlich kräftiger als die ganz blassen mit 4×1 mm, bei denen vor



a b c

Abb. 7a—c. *Oe. lamarckiana vetaurea.* Drei Keimlingstypen; Pflanzen 5 Tage alt

allem die Schmalheit der Blätter stark auffällt (Abb. 7c). Die Verteilung der Individuen einer Aussaat auf die einzelnen Typen zeigt die Tabelle 2. Dabei ist zu bemerken, daß starke Anthocyaneinlagerung in den ersten Tagen nach der Keimung die Farbunterschiede oft schwer erkennen läßt.

Tabelle 2. *Oe. lamarckiana vetaurea. Verteilung der Individuen einer Aussaatreihe auf die einzelnen Typen*

Alter der Pflanzen (Tage)	Grün	Hellgrün-randig	Blaßrandig; Rand schmal	Blaßrandig; Rand mittel	Blaßrandig; Rand breit	Völlig blaß
2	5	2	4	15	6	7
3	2	5	2	17	6	7
4	2	5	2	14	9	7
6	1	5	1	16	9	7

Die cremefarbenen Formen (Abb. 7c) verändern, wenn das Anthocyan verschwunden ist, bis zum 9. Tag nach dem Pikieren ihre Färbung überhaupt nicht. Sie behalten während dieser Zeit auch etwa die am 2. Tag erreichte Größe bei; im übrigen sind sie aber recht widerstandsfähig, und es ist nicht allzu häufig, daß etliche von ihnen eingehen. In der zweiten und dritten Woche (Tabelle 3) setzt dann nach und nach ein Erholungsvorgang ein, indem der Neuzuwachs an der Basis der Keimblätter grün wird (Abb. 8a). Die Pflanzen haben zu diesem Zeitpunkt eine gewisse Ähnlichkeit mit 4 Wochen alten Keimlingen von *Oe. (hookeri × atrovirens) hookeriflexa* mit *hookeri*-Plastiden (s. Abschnitt 5).

Die gegenüber dort früher eintretende Erholung verhindert aber das Absterben der Pflanzen weitgehend und bewirkt, daß schließlich die Keimblätter bis gut zur Hälfte grün sind (Abb. 8b und 9). Offenbar können sogar Zellen des ursprünglich blassen Gewebes sekundär ergrünen, wodurch sich eine verwaschene Ausstrahlung der Grünfärbung in die apikale Keimblatthälfte hinein ergibt. Nur bei wenigen Pflanzen, bei denen die Erholung sehr spät einsetzt und bei denen dann offensichtlich die Plastiden allgemein so stark geschädigt worden sind, daß die Veränderungen irreversibel werden, bleibt der grüne Streifen an der Basis der vollausgebildeten Keimblätter scharf begrenzt (Abb. 8c).

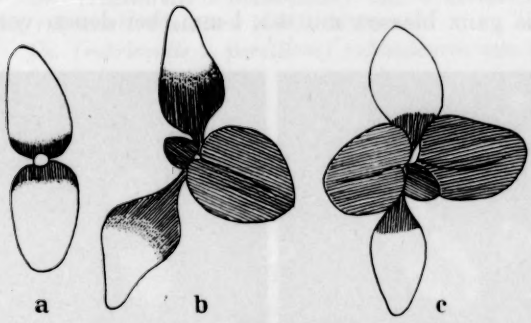


Abb. 8a—c. *Oe. lamarckiana vetaurea.* Drei ehemals blasse Pflanzen (s. Abb. 7c) in verschiedenen Stadien der Erholung. a 17 Tage alt; b 26 Tage alt; c 39 Tage alt; schematisch

Tabelle 3. *Oe. lamarckiana vetaurea. Die weitere Entwicklung der blassen Individuen*

Alter der Pflanzen (Tage)	Völlig blaß	Schmale Basiszone grün	Basales Drittel grün	Basale Hälfte grün	²/₃ der Keimblätter grün	Nur noch die Keimblattspitze blaß	Tot
6	7	·	·	·	·	·	·
9	6	1	·	·	·	·	·
12	3	2	2	·	·	·	·
14	2	2	2	·	·	·	1
16	·	4	1	1	·	·	1
22	·	2	2	1	1	·	1
25	·	2	1	2	1	·	1
28	·	·	2	3*	1⁺	·	1
40	·	·	2	2*	2⁺	·	1
55	·	·	1	1	·	4×	1

* Grünfärbung zur Spitze verwaschen ausstrahlend.
⁺ Spitzenzone mit grünem Anflug.
× Spitze grünlichweiß.

Das erste Laubblatt wird spät, frühestens am 16. Tag, gebildet; die nächsten Blätter folgen im günstigsten Fall im Abstand von jeweils 10 Tagen nach. Sie sind alle völlig normalgrün (Abb. 8 und 9).

Die hellgrün- oder blaßrandigen Pflanzen (Abb. 7b) haben zunächst Ähnlichkeit mit etwa 6 Tage alten Sämlingen von *Oe. (atrovirens* × *biennis) pictirubata* mit *biennis*-Plastiden (s. Abschnitt 4), bei denen eben-

falls eine Ausbleichung der Keimblattränder auftritt. Im Gegensatz zu dort schreitet diese jedoch nicht mehr weiter fort, sondern es zeigt sich

Abb. 9. *Oe. lamarckiana vetaurea.* Ehemals blasse Pflanze (s. Abb. 7c) in der zweiten grünen Periode. 26 Tage alt

sogar, beginnend in der zweiten Woche und damit analog zu den völlig blassen Formen, im basalen Neuzuwachs das Ende der Störung dadurch an, daß der blasse Rand dort nicht mehr auftritt (Abb. 10a). Wie bei den blassen Individuen kommt es auch noch zusätzlich, ausgehend von der nicht mehr gestörten Keimblattbasis, zu einer Ausstrahlung der Ergrünung in die blassen Randteile hinein. Diese werden, von der Basis zur Spitze fortschreitend, zunehmend grün gefärbt, und auf diese Weise sind die meisten der hellgerandeten Individuen nachträglich völlig einheitlich grün (vgl. Tabelle 4). Teilweise bleibt jedoch der apikale Rand der Keimblätter dauernd blaß, und zwar gewöhnlich bei den Pflanzen, die sehr breit hellrandig gewesen waren (Abb. 10b, Abb. 11, Tabelle 4).

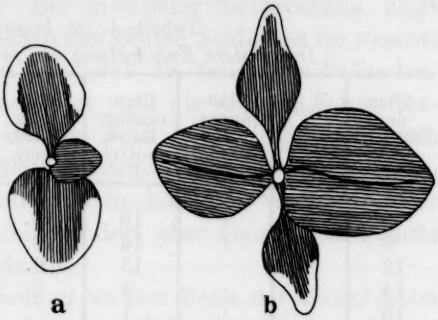


Abb. 10a u. b. *Oe. lamarckiana vetaurea.* Ehemals blaßrandige Pflanzen (s. Abb. 7b) in verschiedenen Stadien der Erholung. a 16 Tage alt; b 27 Tage alt; schematisch

Im übrigen sind die Pflanzen wüchsig und bilden das erste Blatt, je nach der Stärke der schädigenden Randausbleichung, zwischen dem 12. und 16., das zweite schon zwischen dem 16. und 23. Tag und in regelmäßiger Folge die weiteren.

b) Das mikroskopische Bild. Schnitte durch blaßrandige Keimblätter zeigen, daß die normalgrünen Zellen ziemlich choroplastenreich sind; sie

Abb. 11. *Oe. lamarckiana vetaurea.* Ehemals blaßrandige Pflanze. Flächenwachstum in der hellen Zone deutlich gehemmt

enthalten im Durchschnitt 44 Einheiten. Der Durchmesser der normalen Chloroplasten beträgt 4—7 μ. In den gestörten Zellen ist die Plastidenzahl reduziert; im Durchschnitt wurden dort 25 Einheiten je Zelle be-

Tabelle 4. *Oe. lamarckiana vetaurea.*
Die weitere Entwicklung der randpanaschierten Individuen

Alter der Pflanzen (Tage)	Hellgrün randig	Blaßrandig; Rand schmal	Blaßrandig; Rand mittel	Blaßrandig; Rand breit	Rand wieder grün			Völlig grün	Tot
					im basalen Drittel	zu zwei Dritteln	mit Ausnahme der Spitze		
6	5	1	16	9	·	·	·	1	·
9	7	1	14	9	·	·	·	1	·
12	8	·	13	6	3	·	·	2	·
14	·	·	4	2	5	9	2	10	·
16	·	·	1	·	2	15	4	10	·
22	·	·	1	·	·	14	2	14	1
25	·	·	·	·	·	11	3	17	1
28	·	·	·	·	·	4	6	21	1
40	·	·	·	·	·	·	8	23	1
55	·	·	·	·	·	·	7	24	1

obachtet. Die geschädigten Plastiden enthalten nur noch wenige große Grana, sind vakuolisiert und so gut wie farblos. Dazwischen gibt es Übergangszellen mit Chloroplasten, die deutlich pigmentärmer sind als die normalen und deren Granastruktur gegenüber dem Normalfall vergröbert ist, d. h. die Grana sind größer und in ihrer Zahl vermindert.

Auch in den einzelnen Zellen sind die Chloroplasten nicht immer in genau demselben Degenerationszustand, sondern können verschiedene Stadien der Veränderung zeigen. Zellen, in denen weit auseinanderliegende Entwicklungsstadien gleichzeitig vorkommen, sind allerdings selten. Der Ablauf der Degeneration entspricht völlig dem für solche Vorgänge bekannten Schema. Bei diesem läßt sich lichtmikroskopisch zunächst erkennen, daß die im Normalfall einheitlichen Grana unterschiedlich groß werden; sodann vermindert sich die Granazahl, wobei die übrigbleibenden deutlich vergrößert sind, und am Schluß bleibt ein einziges großes Granum übrig. Während dieses Vorgangs spielt sich gleichzeitig die Vakuolisierung der Chloroplasten ab (vgl. Schötz 1955, W. Stubbe u. v. Wettstein 1955, v. Wettstein 1957).

Die blassen Zellen finden sich, wie erwartet, vor allem in der Randzone. Dabei zeigt sich, daß sich die Störung häufig im Palisadenparenchym stärker auswirkt als im Schwammparenchym. Sie reicht dort mehrere Zellreihen weiter ins Blattzentrum hinein, und außerdem erscheint bei schwacher Vergrößerung das Palisadenparenchym allgemein etwas heller. Das verwundert zunächst nicht, da sich in anderen Fällen gezeigt hat, daß die Stärke derartiger Schädigungen durch intensive Belichtung vergrößert wird (vgl. Schötz 1955, 1957; Kandler u. Schötz 1956). Da die Zellen des Schwammparenchyms ein durch die darüberliegenden Zellschichten bereits geschwächtes Licht erhalten, so ist wohl denkbar, daß sich in Analogie zu diesen früher geschilderten Fällen die Störung hier geringer auswirkt. Bei genauerer Betrachtung zeigt sich aber, daß der Unterschied zwischen den beiden Schichten im wesentlichen nicht dadurch hervorgerufen wird, daß die Zellen des Palisadenparenchyms insgesamt stärker geschädigt sind als die des Schwammparenchyms, sondern daß in das erstere, auch in dem makroskopisch grün erscheinenden Gewebe des Blattzentrums, ziemlich häufig Inseln von blassen Zellen eingelagert sind. Solche kommen vereinzelt zwar auch im Schwammgewebe vor, erreichen dort aber niemals die gleiche Häufigkeit wie in der Palisadenschicht.

Während die im Zuge der Erholung an der Basis der Keimblätter neu gebildeten Gewebe aus einheitlich grünen Zellen bestehen, enthalten die erst sekundär sich erholenden Zonen, auch wenn sie äußerlich völlig grün geworden sind, stets noch Zellen mit blassen Plastiden, da offenbar, wie bereits erwähnt, wenn ein bestimmter Grad der Schädigung der Chloroplasten überschritten war, der Defekt nicht mehr ausgeglichen werden kann.

c) Diskussion. Auf Grund ihrer äußeren Erscheinung ist die Panaschierung bei der *Oe. lamarckiana vetaurea* mit den bisher geschilderten Typen (Schötz u. Reiche, Schötz 1958b) schwer in Zusammenhang zu bringen. Da es sich um Vorgänge an *lamarckiana*-Plastiden handelt, so ist

man geneigt, sie mit den anderen bei diesen vorkommenden Ausbleichungserscheinungen zu vergleichen. Die an den Chloroplasten ablaufenden Vorgänge entsprechen dabei am ehesten dem *albivelutina*-Typ, der im ersten Abschnitt besprochen wurde. Bei diesem kommt es nämlich, wie dort erwähnt, ebenfalls in den Zellen der blassen Bezirke der Keimblätter zu einer Reduktion der Plastidenzahl. Sie geht allerdings bedeutend weiter als bei der *lamarckiana vetaurea*. Bei den anderen Ausbleichungstypen scheint aber eine solche Reduktion normalerweise nicht vorzukommen.

Abb. 12. *Oe. (biennis × germanica) rubipercurva.* Pflanze mit *biennis*-Plastiden (blaß) und *germanica*-Plastiden (grün). Flächenwachstum in den blassen Zonen nicht gehemmt

Ähnlich wie beim *albivelutina*-Typ (vgl. Abb. 3) tritt bei der *lamarckiana vetaurea* auch eine Hemmung des Flächenwachstums der blassen Teile auf. Diese zeigt sich nicht nur an den völlig blassen Keimblättern, wo sie u. U. noch durch einen Mangel an Reservestoffen und Assimilaten erklärt werden könnte, sondern auch an den hellrandig bleibenden Spitzenzonen älterer, ursprünglich nur weiß gerandeter Keimblätter (s. Abb. 11). Bei diesen liegt wohl sicher keine Mangelerscheinung vor, da in vielen anderen Fällen (Abb. 12) auch bei bedeutend stärkerer Panaschierung der Keimblätter keine solchen Flächenreduktionen auftreten. Diese Flächenreduktionen wurden bereits früher (SCHÖTZ 1954) auf eine Verzögerung der Zellteilungen, hervorgerufen durch die Hemmung der Plastidenteilung, zurückgeführt.

Gegen eine Zusammenfassung der beiden Typen spricht, daß ihre äußere Erscheinung völlig verschieden ist und daß die vorkommende Weißrandigkeit eher auf einen Zusammenhang mit dem *pictirubata*-Typ (Abschnitt 4) hindeutet. Die äußere Erscheinung und das mikroskopische Bild scheinen sich also zu widersprechen.

Wenn man aber die bisher erwähnten Typen vergleichend betrachtet, so läßt sich erkennen, daß immer dort, wo die Störung sehr bald nach der Keimung einsetzt (s. *pictirubata*) helle Keimblattränder als Primärwirkung auftreten, während bei einem späteren Beginn der Störung *(albivelutina, laxidilatata, hookericurva)* sich die Primärreaktion in der Entstehung einer blassen Basis der Kotyledonen äußert. Bei Berücksichtigung dieser Tatsache läßt sich der Anschluß der *lamarckiana vetaurea* an die *albivelutina* verhältnismäßig leicht gewinnen, wenn man folgendes annimmt:

1. Die Pflanzen machen, wie üblich, eine erste grüne Periode, eine Störungsperiode und eine zweite grüne Periode durch.

2. Wie bei der *albivelutina* werden nur die in der Störungsperiode selbst neu gebildeten Zellen geschädigt. Eine Beeinflussung bereits vorhandener Zellen, die sich während der Störungsperiode nicht teilen, erfolgt nicht.

Wenn man beachtet, daß, wie bei Schötz 1954 angegeben, ausgehend von den grünen Zellen die extreme Ausbleichung und Plastidenreduktion auf 3—1 Einheiten je Zelle beim *albivelutina*-Typ nicht sprunghaft, sondern erst nach einer deutlichen Übergangszone erreicht wird, so wird daraus zumindest teilweise verständlich, daß es bei den blaßrandigen Formen der *lamarckiana vetaurea* nicht zu dieser extremen Reduktion und Ausbleichung kommt. Die im Verhältnis zu der breiten Basis von *albivelutina* schmalen Ränder kommen eben aus dem Stadium der Übergangszone überhaupt nicht hinaus.

3. Die Störung setzt bei den einzelnen Individuen früher als bei der *albivelutina*, aber innerhalb gewisser Grenzen zu ganz verschiedenen Zeiten ein. Bei den wenigen grünen Pflanzen ist sie so stark verzögert, daß sie von der beginnenden zweiten grünen Periode völlig verdrängt wird; bei den hellgerandeten Formen trifft sie die Keimblätter irgendwann im Laufe der Flächenentwicklung ihrer Blattspreite; bei den völlig blassen Individuen tritt sie so früh ein, daß die Blattentwicklung von Anfang an in den Zeitraum ihrer Wirksamkeit fällt. Die Störungsphase ist aber in jedem Fall dann wieder abgeklungen, wenn, einige Zeit nach der Keimung, das basale Meristem den weiteren Aufbau der Keimblätter übernimmt, ein Zeitpunkt, zu dem sie bei der *albivelutina* eben erst beginnt.

Ein solches zeitlich unterschiedliches Einsetzen der Störungsphase wurde schon bei *laxidilatata* (Abschnitt 2) und *hookericurva* (Abschnitt 3) erwähnt.

d) Histogenetische Untersuchungen. Unter den oben angeführten Voraussetzungen (vor allem der, daß nur die in der Störungsphase selbst neu gebildeten Zellen geschädigt werden) ist das Auftreten blasser Keimblattränder bei frühem Störungsbeginn und das Vorkommen blasser Keimblattbasen bei späterem Eintreten der Störungsphase nur dann erklärbar, wenn die Keimblätter zunächst durch ein Randmeristem und nach einiger Zeit, daran anschließend, durch ein an der Spreitenbasis befindliches Meristem aufgebaut werden.

Das Vorhandensein eines basalen Meristems („Spreitenvegetationspunkt" nach TROLL 1939) ist seit GRISEBACH (1844) für die Blätter der Spermatophyten allgemein bekannt; die Entstehung blasser Basisteile ist also verständlich. Auch der Aufbau der Blätter durch ein Randmeristem ist bei Laubblättern von Samenpflanzen häufig. Es handelt sich dabei um den sog. pleuroplasten Modus (PRANTL 1883), bei dem die Blattachse in ihrer Entwicklung den seitlichen Teilen des Blattes vorausläuft. Es wird in diesem Fall zunächst die Mittelrippe angelegt, und erst, wenn sie gebildet ist, setzt an ihren Flanken ein Randwachstum ein, wodurch die Spreite in Gestalt zweier flügelförmiger Anhänge dieser Rippe entsteht (vgl. TROLL 1939). Keimblätter scheinen in dieser Richtung kaum untersucht worden zu sein. Aus diesem Grunde wurde nachgeprüft, ob auch bei den Keimblättern von *Oenothera*, speziell von *Oe. lamarckiana vetaurea*, ein solches Randwachstum vorkommt.

Für diese Untersuchungen wurden Samen von *Oe. lamarckiana vetaurea* in der üblichen Weise in Glasröhrchen auf Filtrierpapier zur Keimung ausgelegt. Von den Keimlingen wurde zum ersten Mal eine Anzahl fixiert, wenn eben die Radicula aus der Samenschale hervorkam. Die Samenschale wurde vor der Fixierung wegpräpariert. Als nächstes Stadium wurden Keimlinge verwendet, die eben die Samenschale abstreiften. Der Altersunterschied zum vorhergehenden Stadium betrug etwa einen Tag. Die nicht zur Fixierung gebrauchten Keimlinge wurden in diesem Zustand in Schalen pikiert. Von ihnen wurde eine Woche lang täglich wieder eine Anzahl fixiert. Auf diese Weise wurden 9 Altersstufen (1—9) mit je einem Tag Differenz erhalten. Ältere Pflanzen wurden nicht mehr verwendet, da bei ihnen keine Veränderungen mehr zu erwarten bzw. die Gewebe schon weitgehend ausdifferenziert waren. Als Fixiermittel wurde das Gilsonsche Gemisch verwendet. Die fixierten Kotyledonen wurden in Paraffin eingebettet und von ihnen Quernnd Längsschnitte hergestellt. Die Schnittdicke betrug 10 μ. Die Schnitte wurden z. T. mit wäßrigem Gentianaviolett (Differenzierung mit salzsaurem Alkohol) gefärbt, in der Hauptsache wurde aber mit Tannin und Eisenchlorid gearbeitet. Bei dieser Färbung treten die Zellwände sehr deutlich hervor; Gegenfärbung mit Safranin.

Wie aus den Abb. 13—19 hervorgeht, ist das geforderte Randwachstum in sämtlichen Altersstadien anzutreffen, und zwar sind es subepidermale Initialen, die sich nach dem Dreizellrhythmus teilen und auf diese Weise die Blattlamina vergrößern. Eine solche Art der Bildung der Blattspreite wurde schon mehrfach für Dikotylenblätter nachgewiesen (NOACK 1922, TROLL 1939, ROTH 1953; vgl. auch HARA 1957). Auch die Bilder bei KRUMBHOLZ (1925), der die Wachstumsvorgänge am Sproßvegetationspunkt von *Oenothera* untersuchte, lassen diese Art des Wachstums erkennen. Bei der Betrachtung der Abb. 13, 15 und 16 erhält man den Eindruck, daß das nach oben (zur Palisadenschicht) abgegliederte Segment jeweils etwas kräftiger entwickelt ist als das untere und daß die Segmente auch nicht ungefähr gleichzeitig, sondern ein wenig nacheinander entstehen. Der Dreizellrhythmus nähert sich also der von ROTH (1953) geschilderten Modifikation, die durch eine

„verzögerte Segmentbildung" charakterisiert ist, wie das in ähnlicher Weise auch NOACK (1922) bei *Pelargonium zonale* beobachtet hat. Schematisch sind die Teilungsschritte der Initialzelle, die dabei ablaufen, in Abb. 20 wiedergegeben.

Dem gegebenen Schema folgen sehr schön die Abb. 15, 16 und 17, wobei die Aufteilung der Segmente 1, 3 usw. natürlich in der verschiedensten Weise variieren kann. So bleibt z. B. in Abb. 16 dieses Segment ungeteilt, weil aus ihm eine Raphidenzelle hervorgeht. Diese Zellen treten in den Oenotherenblättern sehr häufig auf; sie sind stark vergrößert und werden bereits dicht hinter der wachsenden Blattrandinitiale angelegt. In den Abb. 13 und 14 gliedert sich dieses Segment sehr schnell auf, da es zur Leitbündelbildung verwendet wird.

Durch die Art der Teilung der Initialzelle entstehen zunächst drei nebeneinander liegende Zellen (2, 2′, 3; vgl. Abb. 15 und 16), die sich dann weiter in die in der Regel 6—7 Schichten des Mesophylls aufgliedern. Diese Aufteilung entspricht dem „Middle Type" bei HARA (1957).

Diese Art des Wachstums mittels subepidermaler Initialen dürfte auch vor dem Eintritt der Samenruhe am Aufbau der Keimblätter größeren Anteil haben. Nach der Keimung ist sie nicht mehr von allzulanger Dauer und die weitere Ausbildung der Keimblattspreite scheint etwa vom 10. Tag an im wesentlichen das bei den früher betrachteten Ausbleichungsvorgängen allein ins Auge gefaßte basale Meristem zu übernehmen (SCHÖTZ u. REICHE, SCHÖTZ 1958b).

Aufspaltung der Epidermis, die in vielen anderen Fällen für Weißrandigkeit verantwortlich ist (RENNER 1936, RENNER u. VOSS 1942), schied hier schon deshalb als zu diskutierende Ursache aus, weil keine Veranlassung bestand, das Vorhandensein von haplochlamydischen Periklinalchimären anzunehmen. Wie die Abb. 13—19 zeigen, kommt eine solche Aufspaltung auch tatsächlich nirgends vor.

Es sei besonders betont, daß die hier durchgeführten Untersuchungen sich nur auf das Wachstum der Kotyledonen beziehen und daß auch dieses nur von einem bestimmten Altersstadium, nämlich von der Keimung an, verfolgt wurde. Die Ergebnisse sagen also keineswegs etwas aus über die Zahl der in die Blätter am Anfang ihrer Entwicklung eintretenden subepidermalen Schichten des Vegetationspunktes. Diese Frage ist für die Laubblätter der Oenotheren, wegen der damit zusammenhängenden Diskussion über die Möglichkeit der Bildung von Periklinalchimären, wichtig geworden (NOACK 1922, 1924, 1925; KRUMBHOLZ 1925). Für die Keimblätter beansprucht sie schon deshalb nicht das gleiche Interesse, weil dort nach unseren Erfahrungen stets nur Sektorial- und niemals Periklinalchimären auftreten, auch wenn eine Trennung etwa vorhandener verschiedener Plastidensorten schon erfolgt ist. Ob man daraus und aus den hier vorliegenden Ergebnissen schließen kann, daß an der Bildung der Keimblätter die erste subepidermale Schicht einen wesentlich größeren Anteil hat als an der Entstehung der Laubblätter, soll hier nicht erörtert werden. Bei der bedeutend geringeren Größe der Keimblätter wäre ein stärkeres Zurücktreten der tieferen Gewebeschichten und ihre weitgehende Bildung nur aus einer subepidermalen Schicht wohl denkbar.

e) Fortsetzung der Diskussion. Die histogenetischen Untersuchungen haben gezeigt, daß die Entwicklungsgeschichte der Keimblätter der

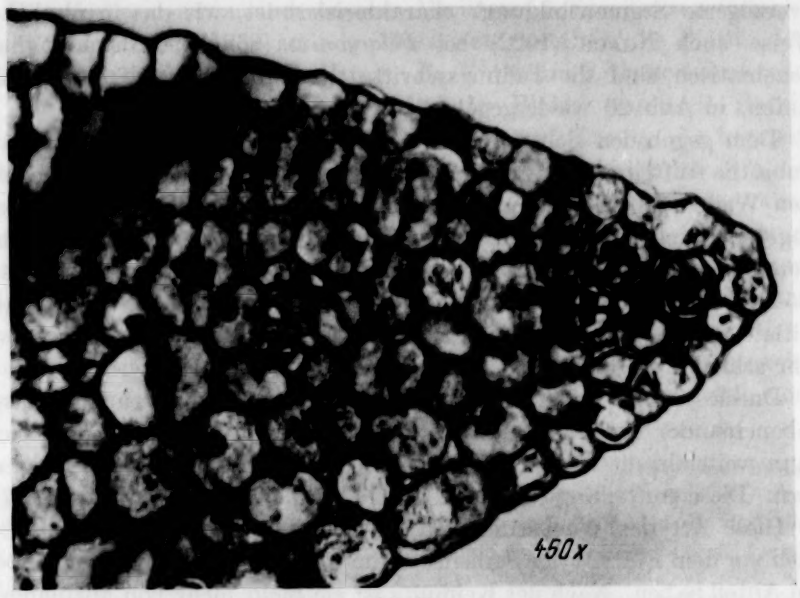


Abb. 13a

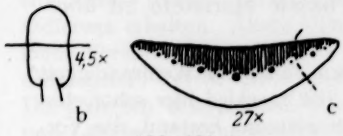


Abb. 13b u. c

Abb. 13a—c. *Oe. lamarckiana vetaurea*. Querschnitt durch ein Keimblatt. Altersstufe 1

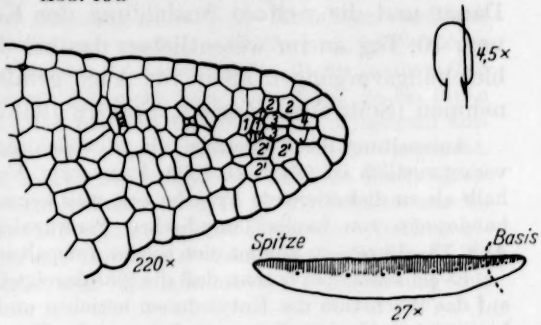


Abb. 14. *Oe. lamarckiana vetaurea*. Längsschnitt durch ein Keimblatt. Altersstufe 1. *J* Initialzelle; *1*—*4* Segmente

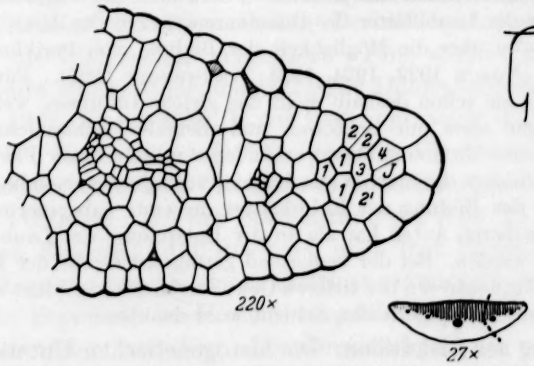
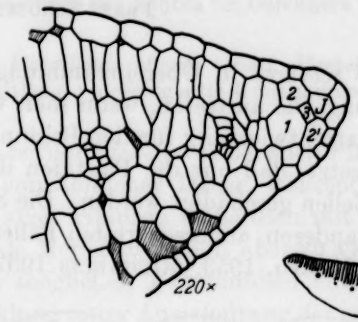


Abb. 15. *Oe. lamarckiana vetaurea*. Querschnitt durch ein Keimblatt. Altersstufe 2



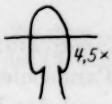
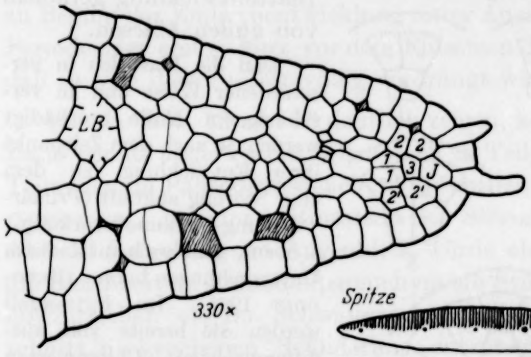


Abb. 16. *Oe. lamarckiana vetaurea.* Querschnitt durch ein Keimblatt. Altersstufe 2

Abb. 16

Abb. 17. *Oe. lamarckiana vetaurea.* Längsschnitt durch ein Keimblatt. Altersstufe 4



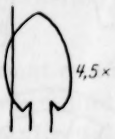
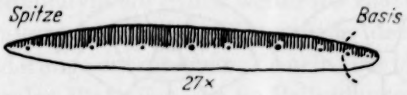
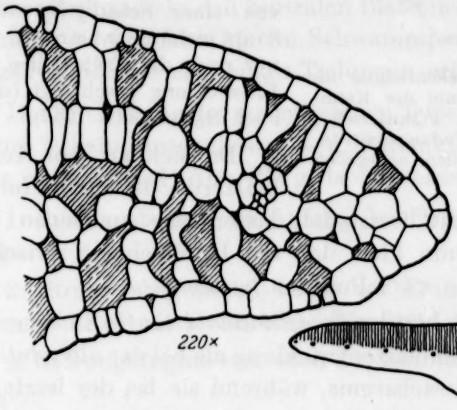


Abb. 17





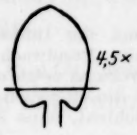


Abb. 18

Abb. 18. *Oe. lamarckiana vetaurea.* Querschnitt durch ein grünes Keimblatt. Altersstufe 5

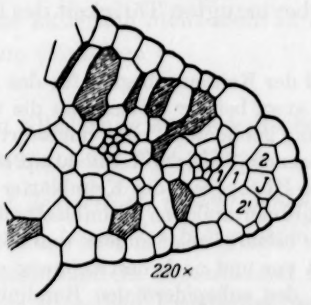
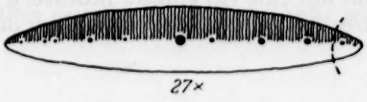


Abb. 19

Abb. 19. *Oe. lamarckiana vetaurea.* Querschnitt durch ein weißrandiges Keimblatt. Altersstufe 7



lamarckiana vetaurea in Übereinstimmung steht mit den Mustern der Panaschierung, die auftreten, wenn man verschiedene Zeitpunkte während der Blattentwicklung für den Beginn der Störungsphase annimmt und voraussetzt, daß nur die Plastiden der in der Störungsphase neu gebildeten Zellen geschädigt werden. Die Scheckungsmuster lassen also, wie auch in anderen, andersgearteten Fällen (vgl. RENNER u. VOSS 1942, RENNER u. Mitarb. 1953, MICHAELIS 1957), den zeitlichen Verlauf der Blattentwicklung geradezu von außen ablesen.

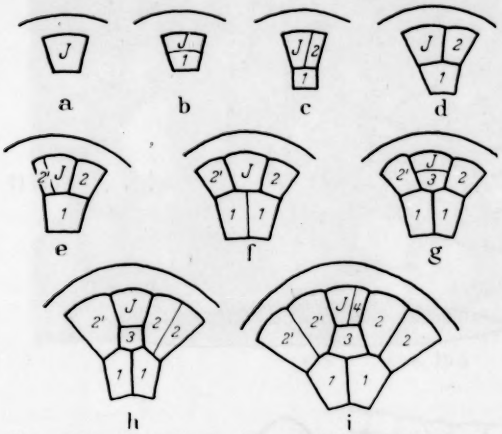


Abb. 20 a—i. Schema der Initialzellenteilung im Dreizellrhythmus beim Randwachstum der Keimblätter von *Oe. lamarckiana vetaurea*. *J* Initialzelle; *1—4* Segmente; *a—i* die einzelnen Teilungsschritte. Epidermis nur als Schicht, ohne Zellen, angegeben

Daß die Plastiden in verschiedener Weise und in verschiedenem Maße geschädigt werden, je nach dem Zeitpunkt ihrer Entwicklung, zu dem eine Störung angreift (Primärwirkung—Sekundärwirkung, s. oben), geht auch aus anderen Untersuchungen hervor (BERGDOLT 1955). Im Extremfall werden die bereits voll ausdifferenzierten Chloroplasten von einer Schädigung überhaupt nicht mehr betroffen und nur noch die Frühstadien der Entwicklung geschädigt (siehe auch SAGROMSKY 1957).

Da sich an den Keimblättern der *albivelutina* derselbe Wachstumsmodus hat feststellen lassen wie an denen der *lamarckiana vetaurea*, so ist nun klar, daß die Unterschiede zwischen den beiden nur auf folgenden zwei Punkten beruhen:

1. Die Störungsphase fällt bei der *lamarckiana vetaurea* in eine bedeutend frühere Phase der Keimblattentwicklung als bei der *albivelutina*, nämlich in die Zeit des Randwachstums, während sie bei der letzteren in die Periode der bevorzugten Tätigkeit des basalen Spreitenvegetationspunktes fällt.

Die Ansicht, daß der Keimungsbeginn für das Einsetzen der Störung eine Bedeutung hat, indem etwa bei der *albivelutina* die vor der Keimung im Laufe der Embryonalentwicklung gebildeten Zellen ungestört bleiben und alle nach der Keimung neu hinzuwachsenden Teile der Keimblattspreite blaß werden, muß wohl fallengelassen werden. Die Histogenese der Keimblätter zeigt eindeutig, daß auch Teile der bei *albivelutina* grünen apikalen Keimblatthälfte erst nach der Keimung entstehen. *Lamarckiana vetaurea* zeigt zudem, daß die Störung grundsätzlich zu ganz verschiedenen Zeiten vor und nach der Keimung einsetzen kann. Dem Übergang des Wachstums von den subepidermalen Randinitialen auf das basale Meristem scheint hier eine viel größere Bedeutung zuzukommen, indem etwa bei *lamarckiana vetaurea*, *hookeriflexa* und *rubiflava* zu diesem Zeitpunkt die Störung abrupt endet,

während sie bei *albivelutina* und *laxidilatata* ebenso scharf einsetzt. Zu diesem Zeitpunkt scheint also eine wesentliche physiologische Umstimmung der Pflanze vor sich zu gehen.

2. Die Störungsphase setzt bei der *albivelutina* bei allen Pflanzen ziemlich gleichzeitig ein und ist von ähnlicher Dauer, während sie bei *lamarckiana vetaurea* zwar bei allen Pflanzen einheitlich mit der Wachstumsverlagerung auf das basale Meristem endigt, aber zu verschiedenen Zeitpunkten beginnt, in den möglichen Extremfällen entweder schon zu Beginn der Embryoentwicklung unter Ausschaltung der ersten grünen Periode oder erst so kurz vor dem Einsetzen der zweiten grünen Periode, daß sie von dieser selbst völlig verdrängt wird.

Wie die Abb. 13 und 16 deutlich zeigen, kommt es auch bei den vom Rand bereits abgerückten Zellen noch zu Teilungen, und zwar sind diese Teilungen im Palisadenparenchym wesentlich häufiger als im Schwammparenchym. Bei einem Einsetzen der Störung etwa kurz vor dem auf Abb. 13 festgehaltenen Augenblick würde also infolge dieser Teilungen die Bleichheit im Palisadenparenchym ein Stück weiter ins Blattzentrum hineinreichen als im Schwammparenchym. Dies würde der im Abschnitt b) gegebenen Schilderung entsprechen. Auch das Auftreten blasser Zellinseln in den zentralen Blatteilen, die im Palisadenparenchym häufiger vorkommen als im Schwammparenchym, würde durch solche ungleich häufige sekundäre Teilungen erklärt.

Die Entstehung der verschiedenen Typen von *Oe. lamarckiana vetaurea* (Abb. 7) kann unter diesen Gesichtspunkten ungezwungen nach folgendem Schema (vgl. Abb. 21) gedacht werden:

1. Störungsbeginn am Anfang der Embryoentwicklung: Blasse Sämlinge.

2. Störungsbeginn im Laufe der Embryoentwicklung noch vor der Samenruhe: Breit-blaßrandige Sämlinge.

3. Störungsbeginn erst nach der Keimung: Schmal-blaßrandige Sämlinge.

4. Störung so kurz, daß sie äußerlich nicht mehr in Erscheinung tritt, oder völlig ausfallend: Grüne Sämlinge.

II. Versuch einer allgemeinen Gliederung der periodischen Ausbleichungserscheinungen bei *Oenothera*

1. Die Gliederung auf Grund des zeitlich verschiedenen Beginns und der unterschiedlichen Dauer der Störungsphase

Die Untersuchung der normalen *Oe. lamarckiana* hat bezüglich der Entwicklung der Keimblätter dieselben Ergebnisse gezeigt, wie sie für *lamarckiana vetaurea* und für *albivelutina* gewonnen wurden. Sehr wahr-

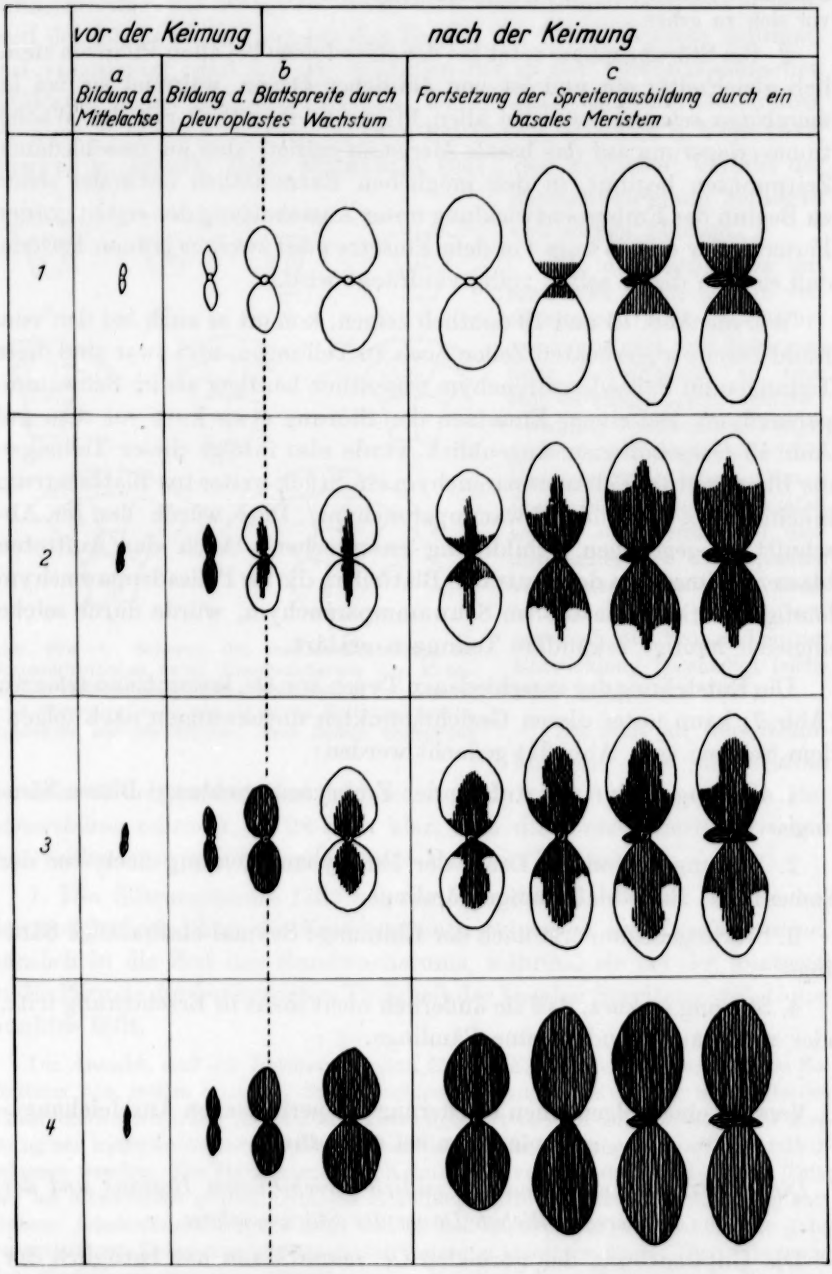


Abb. 21. *Oe. lamarckiana velaurea.* Schematische Darstellung der Entstehung der einzelnen Typen. Erklärung im Text

scheinlich dürfte die Keimblattentwicklung der Oenotheren allgemein nach dem angegebenen Modus verlaufen, also noch folgendem Schema:

a) Bildung der Mittelachse, die mehr oder weniger breit sein kann;

b) Bildung der Blattspreite durch pleuroplastes Wachstum;

c) Fortsetzung der Ausbildung der Blattspreite durch die Tätigkeit eines basalen Meristems.

Wenn man annimmt, daß die Störung des Kern-Plastiden-Verhältnisses in jeder dieser Entwicklungsphasen eintreten und in ihrer Dauer stark variieren kann (eine Annahme, die schon bei SCHÖTZ und REICHE sowie SCHÖTZ 1958b gemacht wurde und die sich bei der Betrachtung der oben geschilderten Ausbleichungstypen geradezu aufdrängt), so kann nun der Versuch unternommen werden, die verschiedenen Typen miteinander in Zusammenhang zu bringen. Es ergibt sich dann die folgende Gliederung, die auch in den Abb. 22a—d (S. 384—387) veranschaulicht ist:

A. Embryoentwicklung und Keimung fallen wenigstens teilweise in die erste grüne Periode.

a) Die Störungsperiode entfällt oder ist so kurz, daß sie rein äußerlich nicht in Erscheinung tritt, da eine Einwirkung auf bereits vorhandene grüne Zellen (Sekundärwirkung) nicht eintritt.

b) Die Störungsperiode fällt noch in die Zeit des Randwachstums.

I. Die Störungsperiode ist kurz und bereits vor Beginn des basalen Wachstums beendet.

1. Die Störung betrifft nur die in der Störungsphase selbst gebildeten Zellen (Primärwirkung).

* Die Störung setzt bereits während der Embryobildung ein.

** Die Störung setzt erst nach der Keimung ein.

2. Die Störung wirkt auch auf die bereits vorhandenen grünen Zellen ein (Primär- und Sekundärwirkung).

* Die Störung dauert so lange, daß die Primärwirkung auf die neu gebildeten Zellen deutlich hervortritt.

** Die Störung währt so kurz, daß äußerlich nur mehr die Sekundärwirkung auf die bereits vorhandenen grünen Gewebe zu erkennen ist[1].

II. Die Störungsperiode ist lang und reicht noch in die Zeit des basalen Wachstums hinein.

1. Die Störung betrifft nur die in der Störungsphase selbst gebildeten Zellen (Primärwirkung).

* Ende der Störung noch während des basalen Wachstums der Keimblätter.

** Ende der Störung erst während der Bildung des ersten Laubblattes.

2. Die Störung wirkt auch auf die bereits vorhandenen grünen Zellen ein (Primär- und Sekundärwirkung).

* Ende der Störung noch während des basalen Wachstums der Keimblätter.

** Ende der Störung erst während der Bildung des ersten Laubblattes.

[1] Vgl. die Angaben auf S. 363.

c) Die Störungsperiode beginnt erst zur Zeit des basalen Wachstums.
I. Die Störungsperiode ist kurz.
1. Die Störung betrifft nur die in der Störungsphase selbst gebildeten Zellen (Primärwirkung).
2. Die Störung wirkt auch auf die bereits vorhandenen grünen Zellen ein (Primär- und Sekundärwirkung).
* Die Störung dauert so lange, daß die Primärwirkung auf die neu gebildeten Zellen deutlich hervortritt.
** Die Störung währt so kurz, daß äußerlich nur mehr die Sekundärwirkung auf die bereits vorhandenen grünen Gewebe zu erkennen ist[1].
II. Die Störungsperiode ist lang.
1. Die Störung betrifft nur die in der Störungsphase selbst gebildeten Zellen (Primärwirkung).
2. Die Störung wirkt auch auf die bereits vorhandenen grünen Zellen ein (Primär- und Sekundärwirkung).
B. Embryoentwicklung und Keimung fallen in die Störungsperiode.
a) Die Störung ist mit dem Beginn oder im Laufe des Randwachstums zu Ende.
b) Die Störung ist mit dem Beginn oder im Laufe des basalen Wachstums zu Ende.
c) Die Störung betrifft auch noch das erste oder die ersten Laubblätter.

Bisher standen diese Typen fast alle isoliert und scheinbar zusammenhanglos nebeneinander. Vor allem waren die beiden Hauptgruppen (A—B), deren Vertreter entweder mit grünen oder mit blassen Keimblättern aus der Samenschale kommen, aber etwa auch die Untergruppen Aa—Ab—Ac kaum miteinander in Zusammenhang zu bringen. Hier zeigt uns der Vorgang bei *Oe. lamarckiana vetaurea* nun, wie innerhalb ein und derselben Art eine ganze Reihe von Varianten entstehen kann und wie nur verhältnismäßig einfache Voraussetzungen, eigentlich nur eine Variation des Beginns und der Dauer der Störungsphase, nötig sind, um alle möglichen Ausbleichungstypen natürlich auseinander zu entwickeln. Auch die jeweils zwei verschiedenen Reaktionstypen bei *hookericurva* (Abschn. I, 3) und *laxidilatata* (Abschn. I, 2) weisen in diese Richtung.

Solange nicht alle Phänomene der Bastardausbleichung bei *Oenothera* bekannt sind, d.h. solange nicht alle möglichen Oenotherenbastarde, die bisher in dieser Hinsicht kaum bearbeitet wurden, neu hergestellt und untersucht sind, hat dieses Einteilungsschema naturgemäß nur vorläufigen Charakter. Daß eine solche Arbeit sich noch über Jahre erstrecken müßte, wurde einleitend schon erwähnt. Es scheint aber, als würden auch die weiteren Untersuchungen und deren Ergebnisse die Struktur des gegebenen Schemas nicht mehr wesentlich verändern, sondern nur noch seinen Ausbau vervollständigen. Insofern kann die bereits jetzt erfolgte Aufstellung der Gliederung gerechtfertigt werden. Allerdings wird sich erst am Ende der geplanten Arbeiten zeigen können, inwieweit sie den Verwandtschaftsverhältnissen der Plastome und Genome

[1] Vgl. die Angaben auf S. 363.

entspricht bzw. ob sich aus ihr neue Gesichtspunkte für diese Verwandtschaft ergeben.

2. Weitere Möglichkeiten für eine Gliederung der Ausbleichungserscheinungen

Es steht zu erwarten, daß alle Ausbleichungsphänomene, die an den Keimblättern von Bastarden auftreten, die nur eine mit dem Kern nicht voll harmonierende Plastidensorte enthalten, in die gegebene Gliederung eingereiht werden können. Es ist aber zu bedenken, daß das aufgestellte Schema nur einen der möglichen Gesichtspunkte für die Klassifizierung dieser Erscheinungen berücksichtigt. Es ist daher wohl möglich, daß weitere Untersuchungen noch zur Aufstellung einer andersartigen Gruppierung führen können, in der andere Gesichtspunkte ordnend im Vordergrund stehen.

Die Gesichtspunkte für eine solche andere Untergliederung der Ausbleichungserscheinungen, wie sie sich aus unseren bisherigen Untersuchungen abzeichnen, sollen im folgenden noch dargelegt werden. Sie beruhen auf dem verschiedenen Verhalten der Pflanzen in der zweiten grünen Periode. Wie schon einleitend erwähnt, bedeuten ja die Ausdrücke „erste grüne Periode" und „zweite grüne Periode" nicht, daß in diesen Zeiträumen in jedem Fall die Harmonie zwischen Kern und Plastiden eine vollständige ist, sondern nur, daß sie gegenüber der Störungsphase sich erheblich verbessert. Diese Verbesserung äußert sich durch das Auftreten einer Grünfärbung, wenn eine solche in der Störungsphase völlig fehlt, oder durch deren merkbare Verstärkung, wenn sie auch in der Störungsphase noch in geringem Maße vorhanden war. Wie aus den Angaben bei Schötz und Reiche sowie bei Schötz 1958b zu ersehen ist, kann die Stärke dieser Ergrünung bei den einzelnen Formen in der zweiten grünen Periode sehr stark variieren und somit als ordnendes Prinzip für eine Gliederung verwendet werden.

Es ergibt sich dann folgendes:

a) Eine Gruppe von Pflanzen, z. B. *Oe. lamarckiana vetaurea* (Abschnitt I, 7), *Oe. (biennis* × *lamarckiana) albivelutina* mit *lamarckiana*-Plastiden (Abschn. I, 1), *Oe. (bauri* × *parviflora) laxisubcurva* mit *bauri*-Plastiden (Abschn. I, 2), erreicht eine so hohe Stabilität in ihrem Pigmentgehalt, daß ihre Vertreter ohne weiteres aufs Feld verpflanzt werden können und dort auch bei voller Sonnenbestrahlung wie normale Pflanzen zum Blühen kommen.

b) Bei einer zweiten Gruppe, etwa bei *Oe. (bauri* × *argillicola) laxidilatata, Oe. (bauri* × *ammophila) laxipercurva, Oe. (bauri* × *syrticola) laxicurva*, alle mit *bauri*-Plastiden (Abschn. I,2), ist die Stabilität der Pigmente ebenfalls sehr hoch; auch sie können aufs Feld verpflanzt werden, ohne daß die Sonneneinstrahlung stärkere Schäden hervorruft. Die Störungsphase und ihre etwaigen Nachwirkungen lassen diese

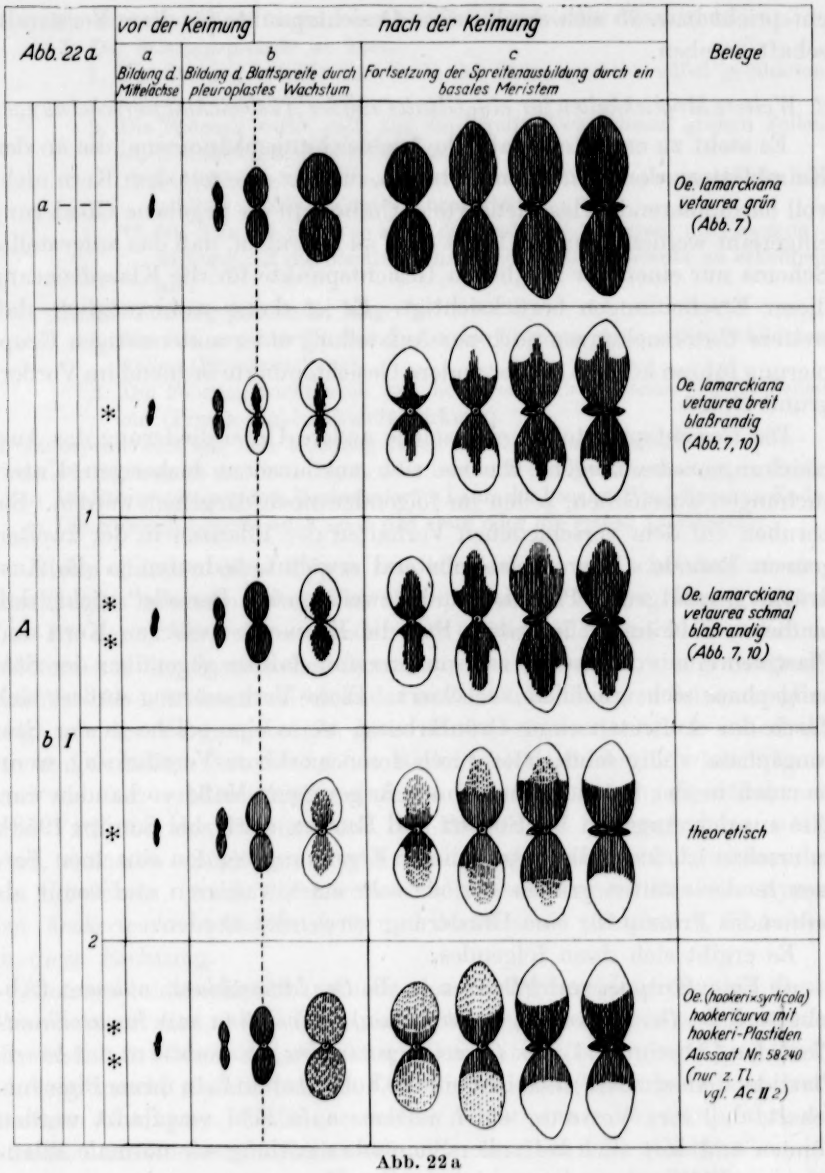


Abb. 22a

Pflanzen aber im ersten Jahr nicht über das Rosettenstadium hinauskommen. Erst im zweiten Jahr kommen sie zum Schossen und Blühen.

c) Bei einer dritten Gruppe, zu der *Oe. (atrovirens* × *biennis) pictirubata*, *Oe. (parviflora* × *biennis) auctirubata*, beide mit *biennis*-Plastiden (Abschn. I, 4), sowie *Oe. (hookeri* × *atrovirens) hookeriflexa* mit *hookeri*-Plastiden (Abschn. I, 5) gehören, bleibt die Erholung in der zweiten grünen Periode sehr unvollkommen. Die in dieser Zeit gebildeten

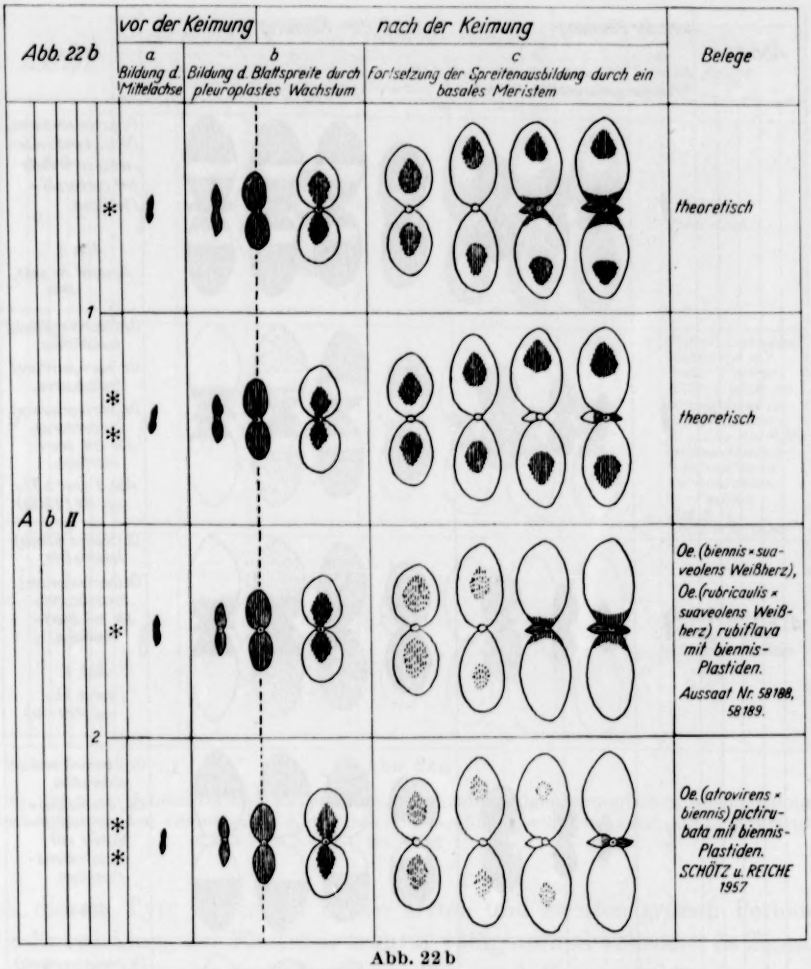


Abb. 22 b

Abb. 22 a u. b. Schematische Ableitung der verschiedenartigen periodischen Ausbleichungserscheinungen bei Oenotheren, die durch Bastardbleichheit geschädigt sind. Erklärung im Text

Blätter sind zwar in der Jugend grün, bleichen aber dann im Sonnenlicht mehr und mehr aus, um mit einer cremefarbenen bis weißen Färbung ein Endstadium zu erreichen. Im grünen Jugendzustand sind die Blätter zur Photosynthese befähigt (SCHÖTZ 1955, 1956), nach einem gewissen Grad der Ausbleichung können sie nicht mehr assimilieren. Diese stark photolabilen Formen (vgl. KANDLER u. SCHÖTZ 1956) vermögen im Freien auf die Dauer nicht zu leben und gehen bei direkter Sonnenbestrahlung ein. Unter Schwachlichtbedingungen bleiben sie jedoch grün und können am Leben erhalten werden (SCHÖTZ u. REICHE).

Im Freiland können diese Pflanzen nur dann gehalten werden, wenn man dafür sorgt, daß sie außer den mit dem Genom nicht harmonieren-

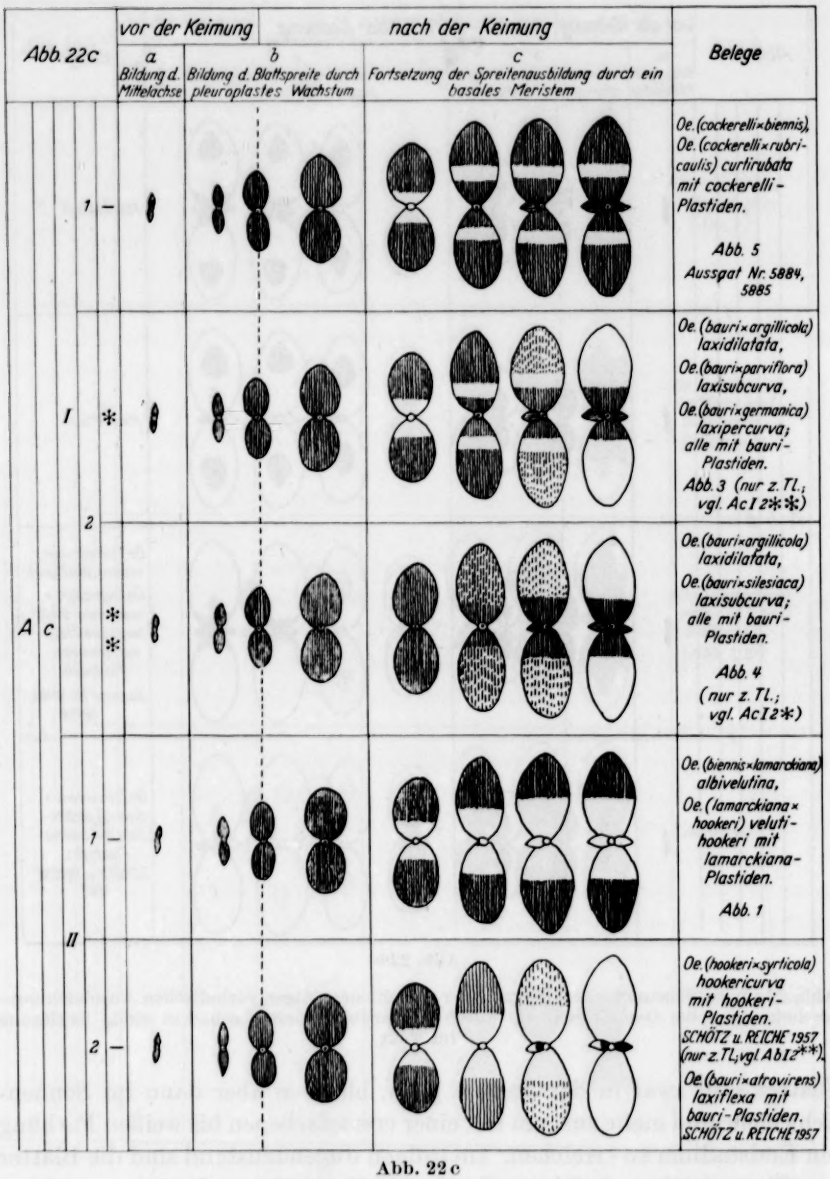


Abb. 22c

den Plastiden auch noch solche enthalten, die mit diesem grün bleiben können. Man verwendet z. B. eine *Oe. (atrovirens × biennis) pictirubata*, die neben den bleichen *biennis*-Plastiden noch *atrovirens*-Plastiden, die unter diesen Bedingungen grün bleiben, enthält. Dann werden die mit den gestörten Plastiden besetzten Teile der Pflanzen von den gesunden miternährt (vgl. Abb. 23).

Betrachtet man die Plastidenentwicklung, so erkennt man, daß sich

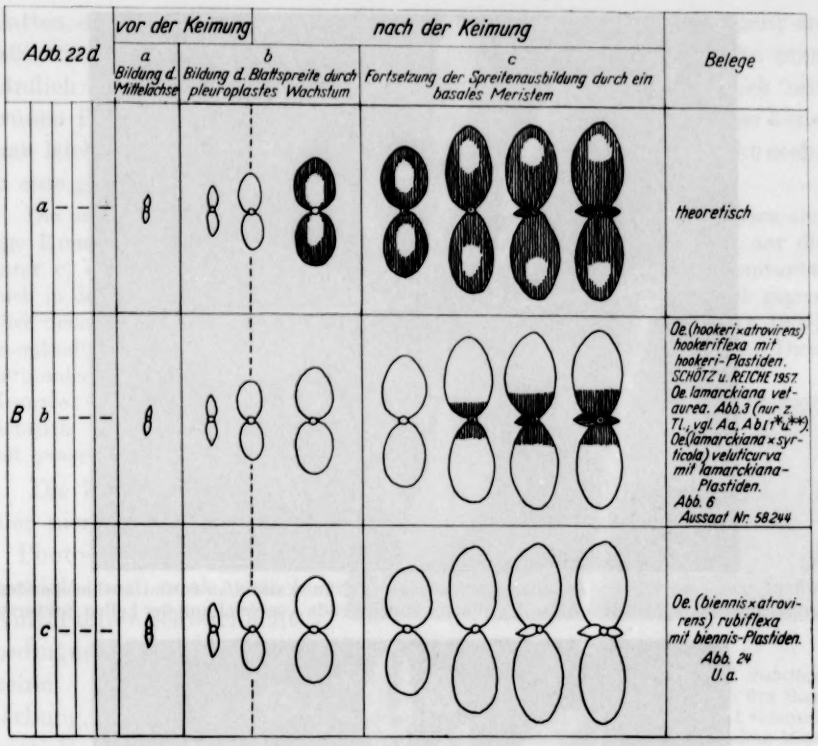


Abb. 22 d

Abb. 22c u. d. Schematische Ableitung der verschiedenartigen periodischen Ausbleichungserscheinungen bei Oenotheren, die durch Bastardbleichheit geschädigt sind. Erklärung im Text

bei diesem Typ, zumindest in der ersten und zweiten grünen Periode, die Entwicklung der Plastidenstruktur völlig normal vollzieht; es kommt zur Ausbildung der typischen Lamellen- und Granastruktur, und erst sekundär werden diese fertigen und funktionsfähigen Strukturen (s. SCHÖTZ 1955) wieder zerstört. Diese Formen entsprechen also im Hinblick auf ihre Entwicklung ganz den von SCHÖTZ 1955 untersuchten und von STUBBE u. v. WETTSTEIN 1955 elektronenmikroskopisch bearbeiteten Formen, deren Bleichheit durch wesentlich andere Gründe, nämlich durch eine Mutation des Plastoms selbst, verursacht ist.

Über die sonstigen Unterschiede dieser beiden Formen vgl. SCHÖTZ 1955, 1956 sowie KANDLER u. SCHÖTZ 1956.

d) Diese unvollständige Erholung in der zweiten grünen Periode erreicht in einer vierten Gruppe, zu der etwa *Oe. (biennis × atrovirens) rubiflexa* mit *biennis*-Plastiden oder *Oe. (biennis × ammophila) rubipercurva* mit *biennis*-Plastiden (Abschn. I, 6) gehören, ein Extrem insofern, als bei ihnen diese grüne Periode völlig entfällt. In dem oben aufgeführten Ordnungsschlüssel gehören sie alle in die Abteilung Bc.

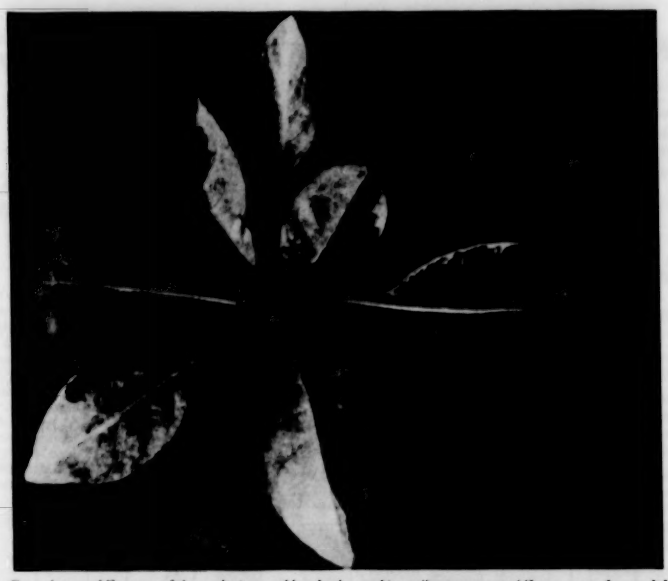


Abb. 23. *Oe. (parviflora × biennis) auctirubata* mit grünen *parviflora*- und ausbleichenden *biennis*-Plastiden. Mit dem Alter der Blätter zunehmende Ausbleichung der hellen Sektoren

Abb. 24. *Oe. (atrovirens × biennis) flexirubata* mit grünen *atrovirens*- und blassen *biennis* Plastiden. Bleichheit der hellen Sektoren an alten und jungen Blättern gleich

Daraus ist zu ersehen, daß bei ihnen auch die erste grüne Periode ausfällt. Wenn man die entsprechende Reihe in der Abb. 22d betrachtet, so wäre es theoretisch denkbar, daß die zweite grüne Periode hier nur sehr spät einsetzt, etwa erst während der Bildung des dritten Laub-

blattes, ein Zeitpunkt, der von dem aufgestellten Schema nicht mehr erfaßt wird. Diese Frage läßt sich aber einfach entscheiden: Wenn man nämlich wiederum, wie unter c) erörtert, die Pflanzen zusätzlich mit grünen Plastiden ausstattet und sie dadurch lebensfähig macht, so kann man leicht erkennen, daß die hellen Sektoren zu keinem Zeitpunkt mehr in eine grüne Phase eintreten (vgl. Abb. 24).

Die unter c) und d) genannten Typen lassen sich übrigens gut durch eine einzige Kreuzung gewinnen. *Oe. atrovirens* × *biennis* liefert nämlich nicht nur die unter c) erwähnte *pictirubata*, sondern, da ihr Pollenkomplex *flectens* mitunter auch in den Eizellen vorkommt, *flexirubata*. Da die *biennis*-Plastiden sich gegenüber denen von *atrovirens* sehr stark durchzusetzen vermögen (s. Schötz 1954), so enthalten diese Pflanzen fast stets in großem Ausmaß *biennis*-Plastiden. Diese harmonieren mit dem *flectens*-Komplex der *atrovirens* offensichtlich noch schlechter als mit *pingens*.

a b

Abb. 25a u. b. *Oe. (biennis* × *atrovirens) rubiflexa* mit *biennis*-Plastiden. a Meristemzelle von der Basis eines sehr jungen Blattes; Plastide mit 1 Granum. b Wenig-granuläre, farblose Plastiden aus dem Mesophyll eines älteren Blattes. Schnitte in 2molarer Saccharoselösung liegend. Vergr. 860 ×

Die hellen Teile haben hier niemals eine meßbare Photosyntheseleistung gezeigt, und auch durch Kultur unter Schwachlichtbedingungen war bei ihnen keine sichtbare Grünfärbung, sondern nur eine vertiefte Gelbtönung zu erreichen (vgl. die bunte Abbildung bei Schötz 1956). Aus diesem Grunde war vermutet worden, daß diesem Typ die Fähigkeit zur Chlorophyllsynthese völlig abginge und infolgedessen zu den anderen bleichen Formen ein tiefgreifender prinzipieller Unterschied bestünde (Schötz 1955, 1956, 1958a). Neuerdings haben jedoch fluorescenzoptische Untersuchungen gezeigt (Schötz unveröff.), daß allgemein in den jungen Blatteilen (bei Schwachlichtpflanzen auch in den älteren) die Plastiden Chlorophyll führen. Dieses scheint jedoch nicht allein in den Granen lokalisiert zu sein, da auch das Stroma rot aufleuchtet.

Zur Deutung dieses Phänomens müssen jedoch auch die anderen bei Strugger u. Losada-Villasante 1956 für einen ähnliche Fall diskutierten Möglichkeiten (Vorhandensein submikroskopischer Lamellensysteme, Lichtbeugung) in Betracht gezogen werden.

Die Entwicklung der Plastiden ist bei dieser Gruppe schon von einem viel früheren Zeitpunkt an gestört als bei den unter c) genannten Formen. Sie bleiben längere Zeit kugelige, unigranuläre Gebilde und scheinen zum Teil unmittelbar aus diesem Zustand heraus vakuolisiert zu werden (Abb. 25a). Ein anderer Teil erreicht, vor allem bei schwacher Belichtung, zwar ein multigranuläres Stadium; gegenüber dem Normalfall ist

aber die Granazahl deutlich reduziert (Abb. 25b), und die nun einsetzende, mit Vakuolisierung verbundene Degeneration vermindert sie nach ganz kurzer Zeit noch weiter, so daß im Endzustand wieder unigranuläre, kugelige Gebilde mit meist einem scheibchenförmigen Granum vorliegen. In diesem Zustand ist nur noch in einzelnen Zellen und Plastiden eine ganz schwache Rotfluorescenz festzustellen.

Die Entwicklungs- und Degenerationsreihe der Plastiden scheint hier Ähnlichkeit zu haben mit den von STRUGGER und LOSADA-VILLASANTE untersuchten Veränderungen der Plastiden in den albicaten Geweben der Blätter von *Chlorophytum comosum*. Bezüglich ihrer Deutung stimmen wir jedoch mit v. WETTSTEIN (1957) überein.

Diese Ergebnisse zeigen, daß auch die vierte Gruppe, entgegen unserer bisherigen Ansicht, als vorläufig extremster Vertreter sich ganz folgerichtig an die übrigen Formen anschließt und daß der Fall einer direkten Störung der Chlorophyllsynthese bei den durch Bastardierung defekten Formen von *Oenothera* offenbar nicht vorkommt.

Zusammenfassung

Das Studium von verschiedenen Formen der Bastardbleichheit bei *Oenothera* führt zu der Feststellung, daß die Zusammenarbeit zwischen Zellkern und Plastiden, und damit die von ihr abhängige Laubfärbung, nicht immer gleichartig ist, sondern sich mit der Zeit ändert. Man kann in der Entwicklung der betreffenden Pflanzen eine erste grüne Periode, eine Störungs- (=Ausbleichungs-) Phase und eine zweite grüne Periode unterscheiden. In die zweite grüne Periode können noch eine oder u. U. mehrere weitere Störungsphasen eingelagert werden.

Die Störungsphase beginnt bei den einzelnen Typen zu verschiedenen Zeiten während der Entwicklung der Keimblätter und ist von verschiedener Dauer. Sie betrifft entweder nur die während ihrer Wirksamkeit entstandenen neuen Zellen (Primärwirkung) oder schädigt auch die bereits in der ersten grünen Periode gebildeten normal grünen Zellen (Sekundärwirkung). Auf Grund dieser Unterschiede können zunächst 6 Ausbleichungstypen aufgestellt werden.

Bei *Oenothera lamarckiana mut. vetaurea* variieren die Ausbleichungsvorgänge in ihrer äußeren Ausprägung sehr stark, da hier offenbar schon bei den einzelnen Individuen die Störung zu ganz verschiedenen Zeiten einsetzen kann. Das Ende der Störungsperiode tritt aber bei allen Individuen im selben Entwicklungszustand ein.

Ein Vergleich der durch die Ausbleichungserscheinungen hervorgerufenen verschiedenen Panaschierungen bei den einzelnen Individuen von *lamarckiana vetaurea* und bei den 6 anderen Typen zeigt, daß diese Ausbleichungen dann einfach durch ein Eintreten der Störungsphase zu verschiedenen Zeiten und durch deren verschiedene Dauer entstanden gedacht werden können, wenn die Keimblätter der Oenotheren

wenigstens in der ersten Zeit ihrer Entwicklung ein Randwachstum aufweisen, das heißt nach dem pleuroplasten Modus entstehen. Erst im Anschluß an die Tätigkeit dieses Randwachstums übernimmt dann ein Meristem an der Spreitenbasis den weiteren Aufbau der Keimblätter. Das Randmeristem wurde für die *lamarckiana vetaurea*, die *(lamarckiana* × *biennis) albivelutina* und die Standardsippe von *Oe. lamarckiana* nachgewiesen. Es handelt sich um subepidermale Initialen, die sich nach dem Dreizellrhythmus teilen. Die Anwesenheit des basalen Meristems zu der geforderten Zeit war von vornherein nicht zweifelhaft.

Die Beachtung der Entwicklungsgeschichte der Keimblätter und die festgestellte Variationsmöglichkeit im Beginn und in der Dauer der Störungsphase, sowie deren verschieden geartete Wirkung (Primär-Sekundärreaktion), ermöglichen es, die ganz verschiedenen Ausbleichungsvorgänge bei jenen Oenotheren, die nur die mit dem Zellkern nicht harmonierende Plastidensorte enthalten, natürlich unterzugliedern. Das Schema dieser Gliederung wird aufgestellt.

Da die in Frage stehenden Pflanzen außer den Verschiedenheiten, welche die Störungsphase selbst betreffen, und auf denen das aufgestellte Schema beruht, auch noch andere Unterschiede bezüglich der Stabilität ihrer Farbstoffe und, damit zusammenhängend, bezüglich der Stabilität der Struktur ihrer Plastiden aufweisen, so wird diskutiert, wie etwa auf Grund dieser Unterschiede eine andere systematische Gliederung der Ausbleichungsvorgänge aufgebaut werden könnte.

Fräulein Dr. I. Roth danke ich für Hinweise und Ratschläge bei der Anfertigung und Auswertung der histologischen Präparate.

Der *Deutschen Forschungsgemeinschaft* bin ich für die Unterstützung meiner Arbeiten zu großem Dank verpflichtet.

Literatur

Baur, E.: Das Wesen und die Erblichkeitsverhältnisse der „*varietates albomarginatae hort.*" von *Pelargonium zonale*. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-lehre **1**, 330—351 (1909). — Bergdolt, B.: Anatomische und entwicklungsgeschichtliche Untersuchungen der Panaschierung und anderer Blattmuster bei Araceen. Z. Bot. **43**, 309—340 (1955). — Grisebach, A.: Beobachtungen über das Wachstum der Vegetationsorgane in Bezug auf Systematik. Wiegmanns Arch. Naturgesch. **10**, 134—155 (1844). — Hara, N.: On the types of the marginal growth in dicotyledonous foliage leaves. Botanic. Mag. **70**, 108—114 (1957). — Heitz, E., u. R. Maly: Zur Frage der Herkunft der Grana. Z. Naturforsch. 8b, 243—249 (1953). — Kandler, O., u. F. Schötz: Untersuchungen über die photooxydative Farbstoffzerstörung und Stoffwechselhemmung bei Chlorellamutanten und panaschierten Oenotheren. Z. Naturforsch. **11**b, 708—718 (1956). — Krumbholz, G.: Untersuchungen über die Scheckung der Oenotherenbastarde, insbesondere über die Möglichkeit der Entstehung von Periklinalchimären. Jena. Z. Naturwiss. **62**, 187—260 (1925). — Michaelis, P.: Genetische, entwicklungsgeschichtliche und cytologische Untersuchungen zur Plasmavererbung. II. Mitt. Planta (Berl.) **50**, 60—106 (1957). — Noack, Ko. L.: Entwicklungsmechanische Studien an panaschierten Pelargonien. Jb. wiss. Bot. **61**, 459—534 (1922). — Vererbungsversuche

mit buntblättrigen Pelargonien. Verh. phys. med. Ges. Würzb., N. F. **49**, 45—93 (1924). — Weitere Untersuchungen über das Wesen der Buntblättrigkeit bei Pelargonien. Verh. phys.-med. Ges. Würzb. **50**, 47—97 (1925). — Prantl, K.: Studien über Wachstum, Verzweigung und Nervatur der Laubblätter, insbesondere der Dikotylen. Ber. dtsch. bot. Ges. **1**, 180—188 (1883). — Renner, O.: Die tauben Samen der Oenotheren. Ber. dtsch. bot. Ges. **34**, 858—869 (1916). — Versuche über die gametische Konstitution der Oenotheren. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **18**, 121—294 (1917). — Die Scheckung der Oenotherenbastarde. Biol. Zbl. **44**, 309—336 (1924). — Die pflanzlichen Plastiden als selbständige Elemente der genetischen Konstitution. Ber. sächs. Akad. Wiss. math.-phys. Kl. **86**, 241—266 (1934). — Zur Kenntnis der nichtmendelnden Buntheit der Laubblätter. Flora (Jena) **130**, 218—290 (1936a). — Zur Entwicklungsgeschichte randpanaschierter und rein grüner Blätter von *Sambucus*, *Veronica*, *Pelargonium*, *Spiraea*, *Chlorophytum*. Flora (Jena) **130**, 454—466 (1936b). — Über das crossing-over bei *Oenothera*. Flora (Jena) **136**, 117—214 (1942). — Plastidenvererbung bei *Oenothera*. S.-B. bayer. Akad. Wiss., math.-nat. Kl. **1952**, 11—12. — Über den Erbgang des *cruciata*-Merkmals der Oenotheren. V. Planta (Berl.) **48**, 343—392 (1957). — Renner, O., u. M. Voss: Zur Entwicklungsgeschichte randpanaschierter Formen von *Prunus*, *Pelargonium*, *Veronica*, *Dracaena*. Flora (Jena) **135**, 356—376 (1942).— Renner, O., u. Mitarb.: Notizen aus dem Botanischen Garten München-Nymphenburg. Ber. dtsch. bot. Ges. **65**, 295—303 (1953). — Roth, I.: Zur Entwicklungsgeschichte und Histogenese der Schlauchblätter von *Nepenthes*. Planta (Berl.) **42**, 177—208 (1953). — Sagromsky, H.: Zur Chlorophyllbildung bei einer grüngescheckten Tomate. Ber. dtsch. bot. Ges. **70**, 251—258 (1957). — Schötz, F.: Plastidenvererbung. Naturwiss. Rdsch. **5**, 185—190 (1952). — Untersuchungen an panaschierten Oenotheren I. Z. Naturforsch. **10b**, 100—108 (1955). — Über die photosynthetische Leistungsfähigkeit einiger panaschierter Oenotheren. Photogr. u. Forsch. **7**, 12—16 (1956). — Beobachtungen zur Plastidenkonkurrenz bei *Oenothera* und Beiträge zum Problem der Plastidenvererbung. Planta (Berl.) **51**, 173—185 (1958a). — Periodische Veränderungen im Zusammenwirken von Zellkern und Plastiden bei Oenotheren. Photogr. u. Forsch. **1958** b (im Druck). — Schötz, F., u. G. Reiche: Untersuchungen an panaschierten Oenotheren. II. Z. Naturforsch. **12b**, 757—764 (1957). — Schwemmle, J., u. Mitarb.: Genetische und zytologische Untersuchungen an Eu-Oenotheren. Teil I—VI. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **75**, 358—800 (1938). — Shull, G. H.: Three new mutations in *Oenothera Lamarckiana*. J. Hered. **12**, 354—363 (1921). — Strugger, S.: Über den Bau der Proplastiden und Chloroplasten. Naturwiss. **37**, 166—170 (1950). — Über die Struktur der Proplastiden. Ber. dtsch. bot. Ges. **64**, 439—453 (1953). — Die Proplastiden in den jungen Blättern von *Agapanthus umbellatus L'Hérit.* Protoplasma (Wien) **63**, 120—173 (1954). — Strugger, S., u. M. Losada-Villasante: Die Plastiden in den albicaten Geweben der Blätter einer mediovariegaten Form von *Chlorophytum comosum*. Protoplasma (Wien) **45**, 540—551 (1956). — Stubbe, W.: Erbliche Chlorophylldefekte bei *Oenothera*. Photogr. u. Wiss. **4**, 3—8 (1955). — Dreifarbenpanaschierung bei *Oenothera* II. Z. Vererb.-Lehre **89**, 189—203 (1958). — Stubbe, W., u. D. v. Wettstein: Zur Struktur erblich verschiedener Chloroplasten von *Oenothera*. Protoplasma (Wien) **45**, 241—250 (1955). — Troll, W.: Vergleichende Morphologie der höheren Pflanzen, Bd. I/2. Berlin 1939. — Wettstein, D. v.: Chlorophyll-Letale und der submikroskopische Formwechsel der Plastiden. Exp. Cell. Res. **12**, 427—506 (1957).

Dr. Franz Schötz,
München 19, Botanisches Institut der Universität, Menzinger-Str. 67

Planta, Bd. 52, S. 393—404 (1958)

Aus der Biologischen Forschungsabteilung der „Österreichische Stickstoffwerke Aktiengesellschaft" Linz a. d. Donau (Leiter: Doz. Dr. H. Linser)

INDUKTION VON EINGESCHLECHTLICHKEIT, SOWIE GAMOPHYLLIE AN BLÜTEN DURCH 2,3,5-TRIJODBENZOESÄURE

Von

Oswald Kiermayer

Mit 4 Textabbildungen

(Eingegangen am 2. August 1958)

Einleitung

Wie Versuche von Hanf (1953) und des Verfassers (1957a, b) zeigten, verursachen verschiedene synthetische Wirkstoffe starke Bildungsabweichungen an Blüten. Diese bestehen unter anderem in Gamophyllien der Kelch- und Corollblätter, sowie Reduktionserscheinungen an Staub- und Fruchtblättern.

Nach den bisherigen Versuchen zu schließen scheint es nun sicher, daß auch an Blüten durch synthetische Wirkstoffe ganz ähnliche morphologische Veränderungen induziert werden können, wie dies von gewöhnlichen Laubblättern her bekannt ist. Es dürfte deshalb auch bei Blüten das Ausmaß und die Art der Bildungsabweichung 1. vom *Entwicklungszustand* der Anlage zum Zeitpunkt der Stoffeinwirkung, 2. von der Art des jeweils verwendeten *Wirkstoffs* und 3. von der *Konzentration* desselben abhängig sein. Der Einfluß der genannten drei Faktoren auf die Formbildung bzw. ihr Zusammenspiel während der Entwicklung ist heute aber noch weitgehendst unbekannt. Aus diesem Grund ist man vielfach geneigt, die mannigfaltigen Gestalts- und Formveränderungen wirkstoffbehandelter Pflanzen als mehr oder minder „zufällig" und ohne formative Gesetzmäßigkeit entstanden zu betrachten. Neuere Versuche (Linser und Kirschner 1957, Kiermayer 1957a) haben jedoch ergeben, daß bei genauer Kenntnis der genannten Faktoren die experimentell hervorgerufenen Bildungsabweichungen einer überraschenden Gesetzmäßigkeit folgen. Ziel experimentell-morphologischer Untersuchungen sollte daher nicht nur die einfache Beschreibung von „Mißbildungen" sein, durch deren Fülle der Eindruck von Gesetzlosigkeit entsteht, sondern vor allem die Klärung der Abhängigkeit von Bildungsabweichungen vom Entwicklungsstadium der Versuchspflanze zum Zeitpunkt der stofflichen Einwirkung, sowie der Art des Wirkstoffes und dessen Konzentration.

Experimenteller Teil

Im folgenden sollen Versuche an Blüten von *Solanum nigrum*, welche sich unter dem Einfluß verschieden stark konzentrierter Wirkstoffe entwickelten, näher beschrieben werden. Die Inflorescenzen dieser Pflanze tragen abgestuft, nach oben zu jünger werdende Blüten, so daß dementsprechend auch die Elemente der Einzelblüte zum Zeitpunkt der Wirkstoffbehandlung in kontinuierlich abgestuften Entwicklungsstadien vorliegen und somit ein ideales Versuchsobjekt für die Untersuchung des Zusammenhanges vom Entwicklungszustand und Wirkstoffeinfluß darstellen.

Samen von *Solanum nigrum* (gesammelt im Herbst 1957 in den Donauauen bei Linz) wurden am 20. 3. 1958 in kleinen Kisten angebaut und am 25. 4. 1958, wo die Pflänzchen bereits eine Höhe von 5—8 cm erreicht und 4 Blätter ausgebildet hatten, in größere Tontöpfe (je 7000 g Haag-Erde) pikiert. Jedes Gefäß erhielt 10 g Volldünger (10:10:15).

An Wirkstoffen kamen wäßrige Lösungen von Indol-3-essigsäure (Na), α-Naphthylessigsäure (Na), Eosin und 2,3,5-Trijodbenzoesäure (TIBA) in Konzentrationen von 10^{-1}, 10^{-2} und 10^{-3}% zur Verwendung.

Die Behandlung erfolgte am 6. 5. 1958 mittels Mikrometer-Meßpipetten, die eine sehr genaue Dosierung der Wirkstoffmenge erlauben. Pro Pflanze wurden auf die Oberfläche der *Blätter* in Form kleiner Tröpfchen verteilt jeweils 50 mm^3 appliziert, was bei einer Konzentration von 10^{-1}% 50 γ, bei 10^{-2}% 5 γ, sowie bei 10^{-3}% 0,5 γ Wirkstoff pro Pflanze entsprach. *Mit freiem Auge sichtbare Blütenstände waren zum Zeitpunkt der Wirkstoffapplikation noch nicht erkennbar.* Pro Konzentration bzw. als Kontrollen kamen 5 Töpfe mit je 3 Pflanzen zur Verwendung.

Die mikroskopische Untersuchung der jungen, mit freiem Auge nicht sichtbaren Inflorescenzen an unbehandelten *Solanum nigrum*-Pflanzen in einem ähnlichen Stadium, wie es im Zeitpunkt der Wirkstoffapplikation vorlag, ergab erwartungsgemäß, daß dieselben Blütenanlagen tragen, welche sich in ganz verschiedenen Entwicklungsstadien befinden. In einem *Blütenstand* waren die untersten, ältesten Blüten stets am weitesten in ihrer Entwicklung fortgeschritten, während die Blüten nach oben zu undifferenzierter wurden. Dabei war der Entwicklungsunterschied der Einzelblüten von der ältesten bis zur jüngsten Blüte relativ groß. An der *Einzelblüte* wird der Kelch als erstes Blütenelement in quinkunzialer Anordnung entwickelt, dann folgen die Corollblätter, die Staubblätter und ganz zuletzt die Fruchtblätter.

Zum Zeitpunkt der Wirkstoffapplikation werden somit bei *ein und demselben Blütenstand* Blüten vom Wirkstoff getroffen, die sich in einer abgestuften Reihe verschiedener Entwicklungsstadien befinden. Wird nun die jeweils unterste (älteste) Blüte mit 1, die oberste (jüngste) mit der jeweils höchsten Zahl bezeichnet, so erhält man Reihen von Blüten, an welchen der Einfluß des Wirkstoffes auf ein bestimmtes Entwicklungsstadium vergleichsweise studiert werden kann.

Die Untersuchung der Blüten von wirkstoffbehandelten Pflanzen erfolgte ca. 5 Wochen nach der Wirkstoffbehandlung. Die meisten Versuchspflanzen hatten zu diesem Zeitpunkt eine große Anzahl von Blütenständen mit zum Teil offenen oder noch geschlossenen Blüten entwickelt. Die mit Indol-3-essigsäure (Na) und Eosin (in den genannten 3 Konzentrationen) behandelten Pflanzen zeigten Blüten, die sich durch nichts von denen der Kontrollen unterschieden. Auch sie hatten einen 5-zähligen unten verwachsenen Kelch, eine 5-zählige basal verwachsene Corolla, 5 Staubblätter, deren Filamente mit der Corolla verwachsen waren, sowie einen oberständigen 2-fächrigen Fruchtknoten.

Die mit α-Naphthylessigsäure (50 γ/Pfl.) behandelten Pflanzen waren in ihrem Wuchs stark gehemmt und zeigten noch keine offenen Blüten. Die schwächeren Konzentrationen von α-Naphthylessigsäure ergaben keine Hemmwirkung (normale Blütenentwicklung). Auf die morphologische Ausbildung von *Solanum nigrum*-Blüten waren somit Indol-3-essigsäure, α-Naphthylessigsäure und Eosin in einer Dosis von 50 γ, 5 γ und 0,5 γ pro Pflanze *wirkungslos*.

Auffallende und schon mit freiem Auge sichtbare Veränderungen der Blüten aber auch der Laubblätter traten mit 2,3,5-Trijodbenzoesäure bei einer Dosis von 50 γ und 5 γ pro Pflanze in Erscheinung. TIBA, welche als stark formativ wirksame Substanz bekannt ist (vgl. z. B. Tumanov und Lisandr 1946, Waard und Roodenburg 1948, Gorter 1949, v. Denffer 1952, Harder und Oppermann 1952), verursachte an den Laubblättern die bekannte Blattspreitenreduktion und Blattrollung, auf die hier nicht weiter eingegangen werden soll. Vielmehr sollen nachfolgend die auffallenden morphologischen Veränderungen an den Blüten näher dargelegt werden.

Morphologische Veränderungen der Blütenelemente durch 2,3,5-Trijodbenzoesäure

a) Calyx. Der fünfzählige basal verwachsene Kelch von *Solanum nigrum*-Blüten ließ bei den mit 50 γ TIBA/Pfl. behandelten Pflanzen verschiedenste Grade der Verwachsung (Gamosepalie) erkennen. Wie Abb. 1, bei welcher die Kelchblätter vom Fruchtknoten entfernt und von oben her fotographiert wurden, zeigt, ließen sich alle Übergänge vom normal 5-zähligen bis zu vollkommen scheibenförmigen Kelchen (auf der Abb. 1 untere Reihe) beobachten. Es war auffallend, daß die runden, vollkommen verwachsenen Kelche *nur bei starker Konzentration (50 γ/Pfl.) und jungen Blüten auftraten.* Bei älteren Blüten traten überwiegend die Formen mit *„teilweisen Verwachsungen"* auf, wie sie die oberen Reihen der Abb. 1 darstellen, ebenso bei *schwächerer Wirkstoffkonzentration* (5 γ/Pfl.).

Werden die Blüten einer Inflorescenz in der schon beschriebenen Weise von der untersten (ältesten) bis zur obersten (jüngsten) mit Nummern versehen, so erhält man eine abgestufte Reihe von Entwicklungs-

stadien. In der Abb. 4 unten sind die Kelchblätter der Blüten eines Standes in dieser Weise geordnet dargestellt. Ganz links findet sich der Kelch der ältesten, ganz rechts der der jüngsten Blüte. Es ist deutlich erkennbar, daß je nach Entwicklungsstadium der Blüten zum Zeitpunkt der Stoffeinwirkung ein anderer Grad der Verwachsung auftrat, wobei bei den jungen Stadien vollkommen scheibenförmige Verwachsungen, bei älteren nur teilweise „Verwachsungen" zu beobachten

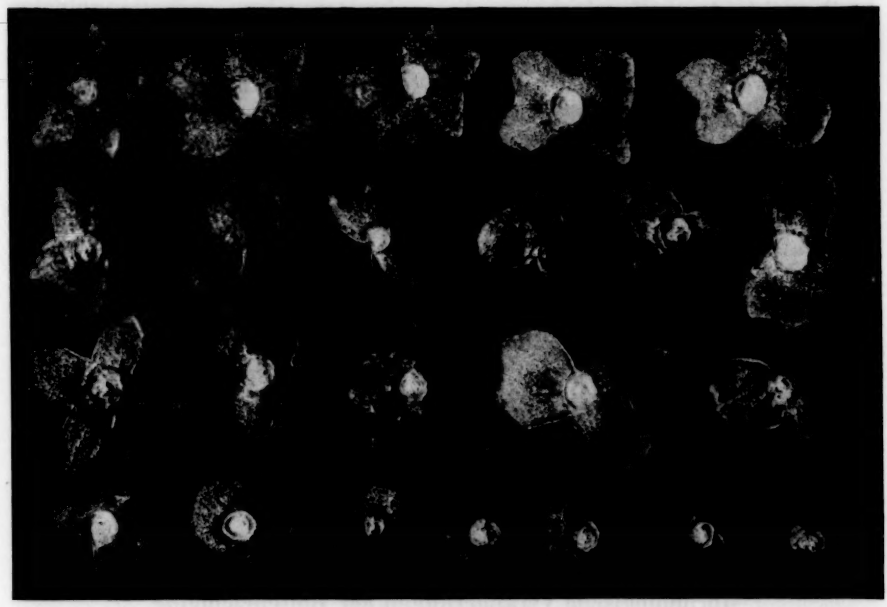


Abb. 1. *Solanum nigrum* nach Behandlung mit 50 γ TIBA pro Pflanze. Kelchblätter vom Fruchtknoten entfernt, von oben her fotographiert; geordnet nach zunehmender Gamosepalie

waren. *Der Grad der Verwachsung scheint somit bei gleicher Wirkstoffkonzentration vom Entwicklungszustand der Anlage im Zeitpunkt der Stoffeinwirkung derart abhängig zu sein*, daß bei *jungen, unentwickelten Stadien eine vollkommene Gamosepalie, bei älteren dagegen nur mehr teilweise bzw. gar keine Verwachsungen induziert werden.* Vollkommene Gamosepalie war demnach nur bei solchen Blüten zu erwarten, die in einem ganz jugendlichen Stadium von Wirkstoff getroffen wurden.

Da bei der schwächeren Konzentration (5 γ/Pfl.) keine „Scheiben", sondern nur mehr teilweise Verwachsungen der Kelchblätter beobachtet werden konnten, scheint für das Zustandekommen der ersteren auch eine bestimmte hohe *Wirkstoffdosis erforderlich zu sein.* Wird diese Dosis unterschritten, so treten, obwohl der Entwicklungszustand eine vollkommene Gamosepalie erlauben würde, nur mehr „teilweise Verwachsungen" ein.

b) Corolla. Wie Abb. 2 links zeigt, traten auch an den Corollblättern mannigfaltige Bildungsabweichungen ein, die darin bestanden,

Abb. 2. Links: Blüten von *Solanum nigrum* nach Behandlung der Pflanzen mit 50 γ TIBA. Oben links: normale Blüte; bei den übrigen Blüten Corollen morphologisch verändert (zwei Blüten sind diklin entwickelt). Rechts: Fruchtknoten (von *Solanum nigrum*) mit Anthere verwachsen. Die Anthere hat einen griffelähnlichen Stiel und eine papillöse „Narbe" entwickelt (Vergr. ca. 20fach)

daß die Kronblätter vollständig zu Röhren verwachsen waren, (vollkommene Sympetalie) die nur oben noch kleine Zipfel erkennen ließen. Einzelne Corollblätter waren ferner untereinander verwachsen, wodurch Blüten von „zygomorphem Charakter" entstanden (Abb. 2 links). So wie bei den Kelchblättern waren extrem *röhrige Verwachsungen* stets nur bei der *hohen Wirkstoffkonzentration* und bei den *jüngsten Blüten* zu beobachten.

Tabelle. *Der Grad der Gamosepalie in Abhängigkeit vom Entwicklungszustand der Anlagen zum Zeitpunkt der Stoffeinwirkung sowie von der Wirkstoffdosis*

Entwicklungszustand der Anlage bei der Wirkstoffeinwirkung	2,3,5-Trijodbenzoesäure-Dosis per Pflanze		
	50 γ	5 γ	0,5 γ
jung	+++	++	–
alt	++	+	–

+++ stärkste Gamosepalie;
++ mäßige Gamosepalie;
+ schwache Gamosepalie

c) Androeceum. Die Staubblätter zeigten von allen Blütenelementen die stärksten Bildungsabweichungen. Diese bestanden vor allem in starken *Reduktionserscheinungen.* Wie das Schema auf Abb. 3 zeigt, auf welchem die Staubblattverhältnisse von Blüten eines Blütenstandes, die sich zum Zeitpunkt der TIBA-Einwirkung in verschiedenen

Entwicklungsstadien befanden, sind die Staubblätter der ältesten Blüten (Nr. 1, 2) normal. Bei Nr. 3 waren dagegen nur zwei Staubblätter normal, eines mit rückgebildetem Filament und mit direkt an die Corolla angewachsener Anthere, ein Staubblatt fehlte vollkommen und eine Anthere war mit dem Gynoeceum verwachsen. Bei Nr. 4 und 5, also bei schon jüngeren Blüten war ein Staubblatt normal, eines ohne Filament und mit an die Corolla angewachsener Anthere, die drei übrigen waren vollkommen rückgebildet; bei Nr. 6 waren nur noch 2 reduzierte Staubbeutel vorhanden und schließlich bei Nr. 7, *der jüngsten Blüte, waren sämtliche Antheren rückgebildet, so daß auf diese Art dikline Blüten entstanden.* Je *jünger* die Anlage zum Zeitpunkt der Wirkstoffeinwirkung war, desto *stärker* trat eine Reduktion der Staubblätter ein. Inwieweit die Konzentration für diese Reduktion mit beeinflussend wirkt, kann einstweilen noch nicht mit Sicherheit gesagt werden. Allerdings konnte beobachtet werden, daß bei der höheren Konzentration die Anzahl der Blüten mit reduzierten Staubblättern höher liegen dürfte als bei der niedrigeren.

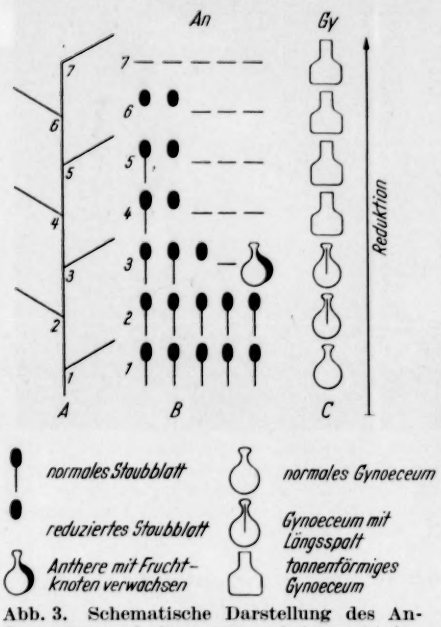


Abb. 3. Schematische Darstellung des Androeceums und Gynoeceums bei verschieden alten Blüten eines Blütenstandes. A: Blütenstand: *1* jüngste, 7 älteste Blüte. B: Anzahl der normalen und reduzierten Staubbeutel in Abhängigkeit vom Alter der Blüten zum Zeitpunkt der Wirkstoffapplikation. C: Zustand des Gynoeceums

Eine überaus auffallende Erscheinung war die nur in einem *ganz bestimmten Entwicklungszustand* der Blütenanlage zu beobachtende *Verwachsung einer Anthere mit dem Fruchtknoten* (Staminodie des Pistills). Hierbei befand sich die Verwachsungsstelle nicht an den Fruchtblatträndern, sondern jeweils an der Außenseite des Fruchtknotens in der Mediane eines Fruchtblattes. Bei Vorhandensein von normal 2 Lokulamenten war stets nur eine Anthere an dem Fruchtknoten angewachsen, bei denen noch später zu beschreibenden Fruchtknoten mit abnormal erhöhter Lokulamentenanzahl waren auch häufig mehrere Antheren mit dem Gynoeceum verwachsen. Die Verwachsung der Anthere war nicht nur auf den Fruchtknoten selbst beschränkt, sondern erstreckte sich auch auf den Griffel. Dabei bildete die Anthere häufig ein griffelähnliches Gebilde (Pistillodie der Anthere; vgl. WHITE 1948) aus,

welches in einem Fall auch ein typisches papillöses Narbengewebe trug (Abb. 2 rechts). Es ist sehr interessant zu sehen, daß das Antherengewebe, wenn es durch eine Verwachsung mit dem Gynoeceum in die *unmittelbare Nähe des Griffelgewebes kommt*, die Fähigkeit erhält, bzw. dazu angeregt wird, *Griffelelemente auszubilden*.

Wie ein Querschnitt durch einen Fruchtknoten mit angewachsener Anthere erkennen ließ, sind Fruchtblatt und Anthere ein nicht voneinander zu unterscheidendes Gewebe. Die Antheren waren hierbei häufig steril, hatten aber auch vielfach große gelbe Pollenkörner entwickelt. An der Verwachsungsstelle am Fruchtknoten war stets eine dunkelrote Zellsaft-Färbung der Epidermiszellen charakteristisch.

Es ist in diesem Zusammenhang noch interessant zu erwähnen, daß ähnliche Fälle von Staminodie und Pistillodie aber auch alle jene bei unseren Versuchen durch TIBA induzierten Veränderungen an Kelch- und Corollblättern sowie am Pistill (Erhöhung der Loculamenten-Anzahl, Verkürzung und Verdickung des Griffels, Reduktion des Narbengewebes) an *spontan aufgetretenen stammfasciierten* Exemplaren von *Nicotiana Tabacum* und *Lycopersicum esculentum* beobachtet werden konnten (vgl. WHITE 1916, 1948 und ZIELINSKI 1945). Es scheint daher sehr wahrscheinlich, daß zwischen den beschriebenen Veränderungen an Blütenelementen (welche in unserem Versuch durch TIBA induziert wurden) einerseits, sowie Stammfasciationen andererseits ein ursächlicher Zusammenhang besteht. Diese Ansicht wird auch dadurch verstärkt, daß GORTER (1949) mit TIBA an Tomatenpflanzen Ringfasciationen induzieren konnte.

Gynoeceum. Im Gegensatz zum Androeceum waren am Gynoeceum keine wesentlichen Reduktionserscheinungen zu beobachten. Allerdings zeigten sich auch hier, wenn die Stoffeinwirkung in bestimmten Entwicklungsstadien erfolgte, typische Veränderungen. Bei älteren Blüten (Abb. 3 C) trat häufig ein Spalt des Fruchtknotens, der sich dem Griffel entlang fortsetzte, in Erscheinung. Er befand sich, so wie die angewachsenen Antheren, stets in der Mediane eines Carpells und nicht am Fruchtblattrand.

Wieweit dieser Spalt mit der, bei der in der Reihe nächst jüngeren Blüte zu beobachtenden Antherenverwachsung (Nr. 3) in Zusammenhang steht, muß noch genauer untersucht werden. Von einem bestimmten jüngeren Entwicklungsstadium an (4—7 auf Abb. 3 C) erscheint das Pistill nicht wesentlich verändert, doch fällt eine etwas andere Gestalt auf: Der Fruchtknoten ist mehr „tonnenförmig" entwickelt, der Griffel ist stark verdickt und die Narbe stumpf und kümmerlich entwickelt. In dem „tonnenförmigen" Fruchtknoten waren die Samen meist verkümmert oder die Ovula stark reduziert (Abb. 4 oben). Es scheint, daß die tonnenförmige Gestalt für den parthenocarpen Zustand der Früchte

charakteristisch ist. Bekanntlich zeigen ja auch andere Früchte (z. B. Tomaten) im parthenocarpen Zustand eine andere Gestalt als normale samenführenden Früchte (z. B. GUSTAFSON 1951). Die Entwicklung parthenocarper Früchte durch die Einwirkung synthetischer Wirkstoffe wurde bereits vielfach beschrieben und ist in unserem Fall wahrscheinlich durch die Reduktion der Staubblätter bei jüngeren Blütenanlagen

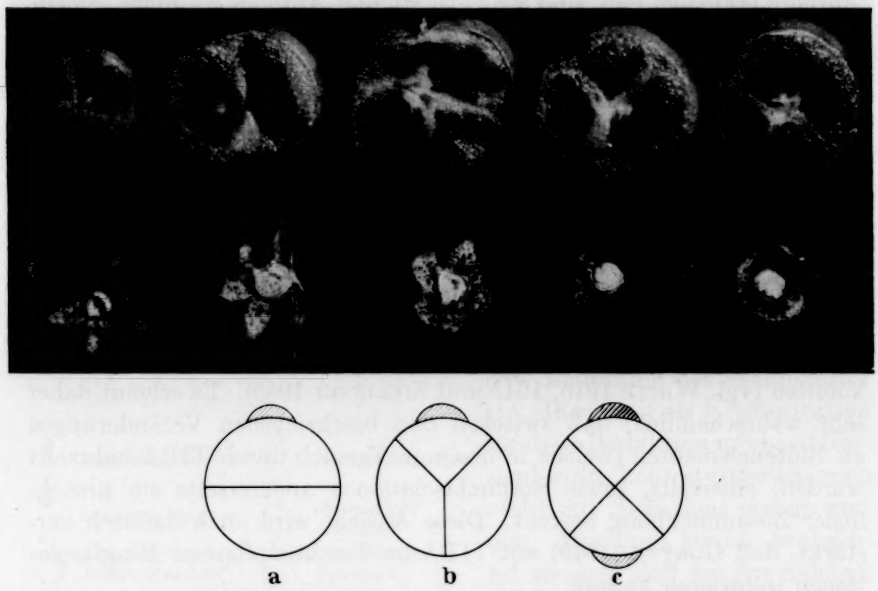


Abb. 4. Oben: Aufgeschnittene Früchte mit ihren dazugehörigen Kelchen, geordnet nach abnehmendem Alter (links: älteste, rechts: jüngste Frucht). Es ist die Mehrfächrigkeit deutlich erkennbar, ebenso die zunehmende Verwachsung der Kelchblätter mit abnehmendem Alter. (Vergr. ca. 5fach). Unten: Schematische Darstellung der gefundenen abnormal mehrfächrigen Fruchtknoten mit den Verwachsungsstellen der Antheren
a) normal 2fächrig, b) 3fächrig, c) 4fächrig

(Wegfall einer Selbstbestäubung) sowie durch das Vorhandensein von Wirkstoff (TIBA) bewirkt worden.

Auffallend am Ovar war die bei jüngeren Blütenstadien zu beobachtende Veränderung in der Anzahl der Loculi. So konnten neben normalen 2-fächrigen Fruchtknoten solche mit 3- und 4-Fächern beobachtet werden (Abb. 4). Ähnliche Verhältnisse wurden auch schon an *Capsella bursa-pastoris*-Früchten nach der Einwirkung von 2,4-D beobachtet (KIERMAYER 1957a).

Diskussion

Wie die beschriebenen Versuche zeigten, ließen sich beim Studium von Blüten, die sich zum Zeitpunkt der Wirkstoffapplikation (TIBA 50 γ und 5 γ per Pflanze) in verschiedenen Entwicklungsstadien befanden, Zusammenhänge von Entwicklungsstadium und morphologischer

Ausbildung einerseits, sowie Wirkstoffdosis andererseits finden. Es wurde beobachtet, daß Blüten nur dann vollkommen verwachsene Kelch- oder Blumenblätter zeigen, wenn die Blütenanlagen in einem ganz jugendlichen Stadium der Entwicklung von einer genügend hohen Wirkstoffmenge getroffen werden. Eine Reduktion der Staubblätter trat ebenfalls nur bei jugendlichen Anlagen ein, ebenso die Ausbildung von „tonnenförmigen" Fruchtknoten. Die Verwachsung von Antheren mit dem Gynoeceum trat nur in einem ganz bestimmten Entwicklungsbereich ein, in welchem offensichtlich die Antheren wie auch das Gynoeceum in einem verwachsungsfähigen Zustand waren. Dies ist weder bei zu alten *noch bei zu jungen Blütenanlagen* der Fall, sondern nur in einem mittleren Entwicklungsalter der Blütenanlagen (vgl. Abb. 3), in welchem das Gynoeceum jung, die Antherenreduktion aber noch nicht zu weit fortgeschritten ist.

Eine Erklärung für die Abhängigkeit der Beeinflussung einzelner Blütenelemente vom Entwicklungszustand der Blattanlagen zum Zeitpunkt der Stoffeinwirkung läßt sich vielleicht folgendermaßen geben: Wie eingangs erwähnt wurde, werden die einzelnen Blütenelemente nacheinander entwickelt, und zwar wird zuerst der Kelch, dann die Corolla, dann die Staubblätter und zuletzt das Gynoeceum ausgebildet. Es ist daher verständlich, daß bei älteren Entwicklungsstadien nur mehr die jüngsten Blütenelemente, d. h. das Gynoeceum oder eventuell noch das Androeceum beeinflußbar sein werden, während die bereits entwickelten und differenzierteren Kelch- und Corollblätter nicht mehr verändert werden können. Das Ergebnis einer Wirkstoffbehandlung wird in einem solchen Falle normale Kelche und Corollen, dagegen ein verändertes Gynoeceum oder Androeceum sein. Befinden sich die Anlagen dagegen in einem ganz jungen Zustand, so sind auch die Kelche und Corollblätter noch nicht weit genug entwickelt und können durch den Wirkstoff in ihrer weiteren Entwicklung beeinflußt werden. Das Ergebnis wird hier eine Bildungsabweichung sämtlicher Blütenelemente sein.

Bei den Kelchblättern konnte deutlich beobachtet werden, daß die vollkommene *Gamosepalie* nur bei ganz jugendlichen Blütenanlagen eintritt und nur dann, wenn eine genügend hohe Wirkstoffkonzentration vorliegt. War die Blütenanlage etwas älter, der Kelch daher schon differenzierter, so traten nur „teilweise Verwachsungen" in großer Formenmannigfaltigkeit auf. Ein ganz ähnliches Resultat als ein zu alter Entwicklungszustand brachte eine geringere Wirkstoffkonzentration. Offensichtlich ist für den Grad der Verwachsung nicht nur der dafür geeignete Entwicklungszustand, sondern auch eine genügend hohe Wirkstoffkonzentration maßgebend. Geringere Wirkstoffmengen (5 γ TIBA/Pfl.) führten zu gleichen oder ähnlichen Bildungsabweichungen, wie sie ältere Entwicklungsstadien bei stärkerer Wirkstoffkonzentration (50 γ TIBA/Pfl.) zeigten.

Nach den beschriebenen Versuchen zu schließen, stellt die vollkommene Gamophyllie die stärkst mögliche Verwachsung dar und bildet das Endglied einer „morphologischen Reihe", in welcher sich, angefangen vom normalen Blatt über verwachsene „Doppelblätter" ein kontinuierlicher Übergang bis zur „Scheiben"- oder „Becher"bildung finden läßt. Welcher Verwachsungsgrad durch synthetische Stoffe induziert wird, ist abhängig vom Zusammenspiel der Wirkstoffkonzentration und des jeweiligen Entwicklungszustandes der Blattanlagen zum Zeitpunkt der Wirkstoffbehandlung. Wie aus der Tabelle ersichtbar, wird ein hoher Verwachsungsgrad nur bei jungen Anlagen und starker Konzentration erreicht; schwächere Grade werden dagegen sowohl bei jungen Anlagen und schwacher Konzentration, als auch alten Anlagen und schwacher Konzentration, sowie alten Anlagen und starker Konzentration erhalten.

Nimmt man an, daß das Zustandekommen von Verwachsungen allgemein auf einer *Wachstumshemmung des Vegetationskegels* in axialer Richtung beruht, wodurch die *Blattanlagen* nicht oder nur unvollständig voneinander getrennt werden, so könnte man das Zusammenwirken vom Entwicklungsstadium und Wirkstoffdosis bei der Gamophylliebildung vielleicht folgendermaßen deuten: Wie die Versuche zeigten, können Verwachsungen durch Wirkstoffe nur bis zu einem ganz bestimmten Stadium der Blattanlage induziert werden. Sind die Anlagen zum Zeitpunkt der Wirkstoffapplikation zu alt, so entstehen keine Veränderungen mehr. Dies scheint nun darauf zurückführbar, daß der Abstand zwischen den beiden Blattanlagen nur in einem sehr jugendlichen Stadium so gering ist, daß eine Verwachsung der Anlagen miteinander bei gehemmtem Längenwachstum möglich ist. Sind die Anlagen älter, der Abstand zwischen ihnen größer, so kann trotz starker Längenwachstumshemmung kein gemeinschaftliches Wachstum beider Anlagen mehr erfolgen. Das Alter der Anlagen bewirkt somit aber auch die große Mannigfaltigkeit der Verwachsungsmöglichkeiten. Befinden sich nämlich zwei Anlagen zu weit voneinander entfernt, so daß keine vollständige Verwachsung entstehen kann, aber doch noch nicht so weit voneinander entfernt, daß überhaupt kein gemeinschaftliches Wachstum mehr möglich ist, so kommt es beim Einsetzen der Hemmung in der Längsrichtung zu den so oft zu beobachtenden „teilweisen" Verwachsungen. Es werden daraus die vom Entwicklungszustand der Anlagen abhängigen „morphologischen Reihen" verständlich, in der sich vom „Becherblatt" alle Übergänge bis zum normalen Blatt finden.

Der Einfluß der *Wirkstoffdosis* läßt sich nun folgendermaßen deuten: Bei älteren Stadien, bei welchen die Trennung der beiden Anlagen bereits weit fortgeschritten ist, können auch bei starker Konzentration und der damit verbundenen starken Längenwachstumshemmung keine „Becher", sondern bestenfalls noch „teilweise Verwachsungen"

entstehen, da die Anlagen, um vollständig miteinander verwachsen zu können, zum Zeitpunkt der Wirkstoffeinwirkung bereits zu weit voneinander getrennt waren. Bei jungen Anlagen und *geringer* Wirkstoffkonzentration wird, obwohl die Anlagen noch eng beisammen liegen und beeinflußbar wären, von der schwachen Wirkstoffdosis eine zu *geringe Hemmwirkung* des Längenwachstums ausgelöst, so daß auch in diesem Falle keine Becherbildung sondern bestenfalls „teilweise Verwachsungen" auftreten können. Eine Becherbildung ist nach dieser Vorstellung nur dann möglich, wenn die Anlagen *ganz eng beisammen liegen* (jugendliches Stadium) und die Konzentration *hoch genug* ist, um einen genügenden *Hemmeffekt* auf das Auseinderweichen der Blattanlagen zu bewirken.

Die hier geschilderte Ansicht über das Zustandekommen von wirkstoff-induzierten Gamophyllien durch eine Hemmung des axialen Vegetationskegelwachstums darf nur als ein möglicher Deutungsversuch angesehen werden. Es ist sehr wahrscheinlich, daß von Wirkstoffen noch andere unbekannte Wachstumsveränderungen am Vegetationskegel induziert werden, wodurch das Vereintwachsen von Blattprimordien ermöglicht wird.

Zusammenfassung

1. Blüten von *Solanum nigrum* zeigten nach Behandlung der Laubblätter mit 2,3,5-Trijodbenzoesäure bei einer Dosis von 50 γ und 5 γ pro Pflanze starke morphologische Veränderungen. Indol-3-essigsäure (Na), α-Naphthylessigsäure und Eosin waren wirkungslos.

2. Grad und Art der Bildungsabweichung waren abhängig vom Entwicklungszustand der Blütenanlage zum Zeitpunkt der Wirkstoffapplikation sowie von der Wirkstoffkonzentration.

3. Vollkommene Gamosepalie und Sympetalie konnte nur dann gefunden werden, wenn *junge*, undifferenzierte Blütenanlagen von *hohen* Wirkstoffmengen getroffen wurden. „Teilweise Verwachsungen" traten bei *älteren* Entwicklungsstadien bzw. bei *geringeren* Wirkstoffmengen auf.

4. Mit abnehmendem Alter der Blütenanlagen zum Zeitpunkt der Wirkstoffapplikation war eine zunehmende Reduktion der Antheren zu beobachten, die bei jungen Anlagen zum völligen Schwund des Androeceums und damit zur Entwicklung von *diklinen* Blüten führte.

5. Bei der Stoffeinwirkung in einem ganz bestimmten mittleren Alter der Blütenanlage trat eine Verwachsung von Antheren mit dem Fruchtknoten ein.

6. Die mit dem Gynoeceum verwachsenen Antheren trugen gelegentlich einen griffelähnlichen Stiel mit papillösem Narbengewebe (Pistillodie).

7. Das Gynoeceum zeigte von einem bestimmten Entwicklungszustand der Blütenanlage an eine „tonnenförmige" Gestalt mit „stumpfem" Griffel; es war vielfach 3- und 4-fächrig ausgebildet und enthielt keine oder nur kümmerliche Samen (parthenocarpe Früchte).

8. Die vollkommene Gamophyllie wird als letztes, extremes Endglied einer kontinuierlichen „morphologischen Reihe" von induzierten Bildungsabweichungen betrachtet, welche vom normalen Blatt über „Doppelblätter" zum Scheiben- oder Becherblatt führt; sie wird als Zeichen des höchsten Verwachsungsgrades diskutiert.

9. Das Zustandekommen verschieden starker Grade von Gamophyllie wird hypothetisch auf verschiedene Grade der Trennung der Blattanlagen voneinander zurückgeführt.

Literatur

Denffer, D v.: Durch die Behandlung mit 2,3,5-Trijodbenzoesäure hervorgerufene Gamophyllien. Ber. dtsch. bot. Ges. **64**, 269—274 (1952). — Gorter, C. J.: The influence of 2,3,5-trijodobenzoic acid on the growing points of tomatoes. Proc. kon. ned. Akad. Wet. **52** (10), 1185—1193 (1949). — Gustafson, F. G.: Fruit development as influenced by growth hormones. In: Plant Growth Substances von F. Skoog, p. 351—356. University Wisconsin Press 1951. — Hanf, M.: Verwachsungen an Laubblättern und in Kompositenköpfchen, verursacht durch wuchsstoffhaltige Unkrautbekämpfungsmittel. Planta (Berl.) **41**, 515—524 (1953). — Harder, R., u. A. Oppermann: Einfluß von 2,3,5-Trijodbenzoesäure auf die Blütenbildung und die vegetative Gestaltung von *Kalanchoe blossfeldiana*. Planta (Berl.) **41**, 1—24 (1952). — Kiermayer, O.: Morphologische Veränderungen an den Früchten von *Capsella bursa pastoris* durch den Einfluß von 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure. Phyton (Österr.) **7**, 183—185 (1957a). — Morphologische Veränderungen an den Blüten von *Kalanchoe blossfeldiana*, sowie den Brutpflanzen von *Bryophyllum tubiflorum* durch synthetische Wuchs- und Hemmstoffe. Phyton (Argentinien) **9**, 53—64 (1957b). — Linser, H., u. R. Kirschner: Zur Beeinflussung der Blattbildung durch Morphoregulatoren. I. Die Einwirkung von 2,4-D auf *Erodium cicutarium*. Planta (Berl.) **50**, 211—237 (1957). — Tumanov, I. I., and A. A. Lisandr: On the physiological action of triiodobenzoic acid upon plants. J. Bot. URSS. **31** (3), 13—21 (1946). — Waard, J. de, and J. W. M. Roodenburg: Premature flowerbud initiation in tomato seedlings caused by 2,3,5-trijodobenzoic acid. Proc. kon. ned. Akad. Wet. **51** (2), 248—251 (1948). — White, O. E.: Studies of teratological phenomena in their relation to evolution and the problems of heredity. II. The nature, causes, distribution and inheritance of fasciation with special reference to its occurrence in Nicotiana. Z. indukt. Abstamm.- u. Vererb.-Lehre **16**, 49—185 (1916). — Fasciation. Bot. Review **14**, 319—358 (1948). — Zielinski, G.: Fasciation in horticultural plants with special reference to the tomato. Proc. Amer. Soc. Horticult. Sci. **46**, 263—268 (1945).

Dr. Oswald Kiermayer,
Linz a. d. Donau (Österreich), Carl-Bosch-Weg 5

Planta, Bd. 52, S. 405—430 (1958)

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Göttingen

ÜBER MIXOTROPHIE BEI FLAGELLATEN* **

Von

E. G. PRINGSHEIM

(Eingegangen am 28. August 1958)

I. Die verschiedenen Ernährungsformen

Die Ernährungsweise ist bei den Flagellaten mannigfaltiger als bei irgendeiner anderen Gruppe von Lebewesen und umfaßt alle bekannten Arten von Nahrungserwerb mit Ausnahme der Chemoautotrophie. Auch gemischte Ernährungsweisen sind häufig. So kommt bei den mit Chlorophyll ausgestatteten Flagellaten oft zu der Photosynthese die Verwertung vorgebildeter organischer Verbindungen. Man spricht dann von Mixotrophie.

Leider ist der Ausdruck Mixotrophie häufig ohne scharfe Begriffsbestimmung in verschiedenen Bedeutungen verwendet worden, z. B. so, als verstünde man darunter jede Art von Zusatzernährung durch organische Verbindungen neben der Photosynthese, oder selbst als wäre jede gemischte Ernährungsform, z. B. auch Zoo- mit Osmotrophie oder mit Phototrophie, als Mixotrophie zu bezeichnen (HUBER-PESTALOZZI 1950, S. 95). Dadurch verliert ein solcher Fachausdruck an Wert. Man sollte an der ursprünglichen Definition festhalten. Photoheterotrophie (DUSI 1930) wäre vorzuziehen; Mixotrophie hat aber Priorität.

Der Ausdruck Mixotrophie stammt, ebenso wie Auto- und Heterotrophie, von PFEFFER (1897, S. 349). Er sagt: „Wie bei diesen (d. h. chlorophyllfreien Pflanzen) muß aber auch durch Bezug aus der Umgebung ein mehr oder minder großer Teil der organischen Nahrung bei denjenigen Pflanzen — den mixotrophen — erworben werden, welchen ein unzureichender Chlorophyllgehalt nicht gestattet, ein genügendes Quantum organischer Substanz auf photosynthetischem Wege zu produzieren".

PFEFFER hat wahrscheinlich, obgleich er das nicht ausdrücklich sagt, an Blütenpflanzen gedacht. Es ist bemerkenswert, daß er sich damit, wie auch sonst manchmal, einen Fall ausgedacht hat, für dessen Vorhandensein damals m. W. keine experimentelle Grundlage vorhanden war. Höchstens hätte man an Pflanzenteile während des Ergrünens denken können, etwa Keimlinge oder junge Sprosse von Stauden; doch spricht PFEFFER von mixotrophen Pflanzen, also offenbar Arten, nicht von Entwicklungszuständen. Bald nach Erscheinen von PFEFFERs Buch fand HEINRICHER (1898, 1901) in dem gelblich grünen Wurzelparasiten *Tozzia alpina* eine Pflanze mit schwacher Kohlensäureassimilation, die tatsächlich mixotroph zu sein scheint. Die meisten parasitischen Blütenpflanzen sind entweder voll phototroph oder bilden so wenig Chlorophyll, daß man es vernachlässigen und sie als ganz heterotroph ansehen muß.

Unter niederen Organismen darf man Fälle wie den von *Tozzia* häufiger erwarten. Wenn man unter „genügend" in PFEFFERs Definition

* OTTO RENNER zum 75. Geburtstag.

** Mit Unterstützung durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft.

die Menge versteht, die eine Vermehrung der lebenden Substanz erlaubt, so ist man auch bei Mikroorganismen lange über Vermutungen auf Grund der Beobachtung kleiner oder blass gefärbter Chlorophyllträger nicht hinausgekommen. Erst durch Untersuchungen an *Ochromonas malhamensis* wurde festgestellt, daß diese sich ohne zusätzliche organische Nährstoffe nicht vermehren kann (Pringsheim 1952), weil ihre Photosynthese selbst unter den günstigsten Umständen zu schwach ist, um den Kompensationspunkt zwischen Kohlensäureassimilation und Atmung zu überschreiten.

Mein Interesse an der Förderung chlorophyllhaltiger Organismen durch organische Stoffe war schon früher durch Untersuchungen an *Euglena gracilis* und gewissen *Chlorogonium*-Arten erweckt worden. Diese gehören zu den zahlreichen Algen, und besonders Flagellaten, die sich ohne organische Nährstoffe nur langsam vermehren. Das hat bei *Chlorogonium* seine Ursache nicht in einem Wuchsstoffbedarf, und es bleibt auch bei *Euglena gracilis* ebenso, wenn die ihr unentbehrlichen Vitamine B_1 und B_{12} vorhanden sind. Obgleich bei diesen Flagellaten, die reichlich Chlorophyll enthalten, die Photosynthese zur Vermehrung ausreicht, kann man sie doch noch als mixotroph im Sinne Pfeffers bezeichnen, weil sie ohne organische Zusatznahrung nicht normal gedeihen.

Will man auch die Fähigkeit zur Vermehrung im Dunkeln ins Auge fassen, so ist es zweckmäßig, weitere Begriffe einzuführen. Ein Organismus könnte sehr wohl mixotroph sein, wenn er Gelegenheit dazu hat, aber das Licht doch für seine Ernährung nicht durchaus nötig haben, wie es bei *Ochromonas malhamensis* der Fall ist. Andere Organismen könnten wohl organische Stoffe benötigen, aber auch Lichtenergie, wie es für *Euglena pisciformis* und *Euglena deses* (eigentlich *E. geniculata*, Pringsheim 1956, S. 6 und 112) angegeben wird (Dusi 1930). Der häufigste Fall aber ist der, daß sich Flagellaten mit Neigung zu Heterotrophie am Licht phototroph, im Dunkeln heterotroph ernähren können. Hierfür schlage ich den Ausdruck Amphitrophie vor. Bei dieser physiologischen Gruppe sind zwei verschiedene Ernährungsmöglichkeiten bei ein und demselben Lebewesen zu finden. Sie stellen allerdings nur Extreme dar, zwischen denen Übergänge vorhanden sind; aber inwieweit die Photosynthese durch die Gegenwart geeigneter organischer Nährstoffe beeinflußt wird, darüber ist nicht viel bekannt.

Euglena gracilis z. B. kann sich am Licht mit Kohlensäureernährung ungefähr ebensoschnell vermehren wie im Dunkeln mit Acetat (Cramer u. Myers 1950, 1952). Der Fall, daß beides geboten wird, ist von den Autoren nicht zum Vergleich herangezogen worden. Jedenfalls kann dabei, also bei Mixotrophie, die Vermehrung rascher sein als bei jeder der beiden Ernährungsweisen für sich. Ob sie additiv zusammenwirken, ist eine andere Frage.

Da bei der Photosynthese Sauerstoff entsteht, der *Euglena gracilis* im Dunkeln, besonders in tiefer Flüssigkeitsschicht, nicht in genügender Menge für optimale Vermehrung zur Verfügung steht, so kann man sich vorstellen, daß sogar ein über Additivität hinausgehendes Gedeihen erzielt wird; aber meist dürfte bei *Euglena gracilis* die Vermehrung am Licht kaum doppelt so stark sein als im Dunkeln, wenn Kulturen in der gleichen, an sich geeigneten organischen Nährlösung verglichen werden.

Der Begriff der Mixotrophie schließt an sich nicht die Fähigkeit zur Vermehrung im Dunkeln, also ohne Photosynthese, ein. Andererseits würde ein (obligat) mixotropher Organismus auch nicht ohne organische Nährstoffe, mit Photosynthese allein, auskommen. Mixotrophie und Amphitrophie sind also zwei sich nicht deckende, aber überschneidende Begriffe. Ein amphitropher Organismus kann sehr wohl mixotroph ernährbar sein.

Meist wird eine Form, die durch organische Stoffe neben Photosynthese sehr gefördert wird, ohne sie sich aber nur gerade am Leben erhalten kann, auch im Dunkeln zur Vermehrung zu bringen sein. Das ist aber doch nicht immer so, und derartige Fälle, von denen einige in der Folge aufgeführt werden sollen, bieten besondere Probleme; denn man fragt sich, warum Nährstoffe, die am Licht ein üppiges Gedeihen ermöglichen, dies nicht auch bei Dunkelkultur tun sollten. Man könnte annehmen, daß das Licht nicht auf dem Wege der Ernährung wirkt, sondern in notwendige, mit der Vermehrung zusammenhängende Gestaltungsvorgänge eingreift. Solche photomorphotische Einflüsse sind bei höheren Pflanzen und bei Pilzen bekannt. Das wäre vielleicht auf Grund von Versuchen mit verschiedenen Spektralbezirken zu entscheiden. Oder man könnte daran denken, daß das Licht, so wie esbei der Photosynthese auf das Wasser, in diesen Fällen auf organische Verbindungen photochemisch einwirkt und dadurch ihre Verwertung ermöglicht.

Derartige Fragen sind meines Wissens bisher in keinem Falle beantwortet worden. Fälle von Photoreduktion, die der Wirkungsweise des Lichtes bei Purpurbakterien entsprechen, wo also nicht Wasser, sondern organische Verbindungen die Wasserstoffspender sind, und deshalb kein Sauerstoff frei wird, sind bei *Scenedesmus* (Gaffron 1942, 1943) und *Ochromonas* (Vishniac 1957) aufgedeckt worden. Sie werden vielleicht unsere Vorstellung von der Mixotrophie umgestalten.

Aus dem Gesagten geht hervor, wie mannigfaltig die Ernährungsformen bei niederen Organismen sind und wie viele Zwischenarten es geben kann. Sie sind natürlich für die Behauptung einer Art in der Natur sehr wichtig und werden sich als Anpassung an die jeweiligen ökologischen Bedingungen auswirken.

Die Aussage, daß ein mit Chlorophyll ausgestatteter Organismus obligat mixotroph ist, kann allerdings kaum streng bewiesen werden.

Man könnte immer entgegnen, daß vielleicht bei erhöhter Kohlensäurekonzentration, besserer Beleuchtung oder in einer günstigeren Nährlösung dennoch eine Vermehrung ohne organische Zusatzstoffe möglich sein könnte. Unter natürlichen Bedingungen wird jedoch der Wettbewerb mit anderen grünen Organismen nur bestanden werden können, wenn die Photosynthese durch zusätzliche organische Nährstoffe unterstützt wird.

Etwas ganz anderes ist es, wenn zwar der Bedarf an Energie- und Baumaterial durch die Photosynthese gedeckt werden kann, wenn aber im Aufbaustoffwechsel Lücken bestehen, wahrscheinlich durch den Mangel einzelner Enzymsysteme. Die Frage, ob dieser Mangel während der Evolution entstanden ist, oder umgekehrt die Fähigkeit zur Synthese aller lebenswichtigen Verbindungen, also Autotrophie, während der Phylogenese langsam erworben worden ist, kann man auf Grund der verfügbaren Tatsachen nicht allgemein beantworten. Vielleicht liegt das daran, daß beides geschehen ist. Es hätten sich dann aus vielseitigen Lebewesen, z. B. bei der Anpassung an eine parasitische Lebensweise, solche entwickelt, die sich mit einem Teil ihres Metabolismus auf die vom Wirt gelieferten Verbindungen verlassen. Im anderen Fall hätten sich, wie es bei den differenzierten höheren Algen der Fall zu sein scheint, aus chlorophyllhaltigen Organismen mit gemischter Ernährung obligat photoautotrophe entwickelt. Für diesen Gang der Geschehnisse in der Evolution spricht die Beobachtung, daß einfachere einzellige Flagellaten und Algen einen größeren Hang zur Verwertung organischer Verbindungen haben als höher differenzierte.

Die Verbindungen, die manche phototrophen Organismen nicht synthetisieren können, deren sie aber bedürfen — man könnte sie Suppline nennen —, können verschiedener Natur sein. Am besten erforscht sind die auch von Tier und Mensch benötigten Vitamine. Doch müssen wir darauf gefaßt sein, daß gewisse Aminosäuren und Nucleinverbindungen eine ähnliche Rolle spielen, da es schon bekannt ist, daß sie von manchen farblosen Mikroorganismen, z. B. Bakterien und Ciliaten von außen aufgenommen werden müssen. Für Aminosäuren erwähnen Hutner und Provasoli (1951) *Chlamydomonas chlamydogama* als einen Organismus, der Histidin und Asparaginsäure zugeführt bekommen muß und dabei obligat phototroph ist.

II. Allgemeine Übersicht

Der Schluß auf Verwertung organischer Verbindungen ist beim Fehlen des Chlorophylls, das Heterotrophie nötig macht, am sichersten. Chlorophyllfreie Organismen gibt es in der Verwandtschaft sämtlicher chlorophyllführenden Flagellaten, deren Klassen unter sich morphologisch, sowie in ihren Pigmenten und Reservestoffen tiefgreifende

Verschiedenheiten aufweisen. Von denjenigen farblosen Formen, welche als Verwandte chlorophyllführender Flagellaten erkannt werden können, also nach dem Chlorophyllverlust nicht stark abgewandelt worden sind, gehört die Mehrzahl zu den „primitiven", nach allgemeiner Ansicht den Vorfahren verhältnismäßig nahestehenden Gruppen. Farblose Lebewesen mit verwickelterem Bau fehlen unter den saprotrophen Einzellern[1].

Bei den Flagellaten mit animalischer Ernährung ist das anders. Viele unter ihnen sind im Zellbau, eine große Anzahl auch in der Bildung hochorganisierter Zellkolonien stark abgeleitet. Diese eindrucksvollen Differenzierungen sind wahrscheinlich nach dem Verlust der Photosynthese erworben worden.

Die Fähigkeit chlorophyllführender Organismen, sich im Dunkeln heterotroph ernähren zu können, zeigt eine ähnliche Verteilung im System wie die der farblosen. Da wir annehmen, daß die farblosen Formen durch den Verlust der Chromatophoren aus pigmentierten entstanden sind, kann das nicht überraschen. Wenn nämlich nicht schon die Vorfahren imstande gewesen wären, heterotroph zu leben, so hätten alle Zellen verhungern müssen, die durch Mutation oder spezifische Einwirkungen ihre Chromatophoren eingebüßt hätten.

Die Fähigkeit, anstelle der selbstbereiteten auch von außen gebotene Stoffe zur Ernährung zu verwenden, ist leicht verständlich. Weniger leicht ist es zu verstehen, daß dieser Ersatz oft nicht möglich ist, so daß entweder, trotz der Gegenwart von Stoffen, deren Verwertung bei Lichtzutritt durch Förderung des Wachstums erkennbar wird, dennoch keine Entwicklung im Dunkeln erzielt werden kann, wie z. B. bei *Pyrobotrys:* Photomixotrophie — oder organische Nährstoffe, wie z. B. bei *Eudorina* gar keine fördernde Wirkung haben und auch keine Reservestoffspeicherung verursachen, also offenbar nicht aufgenommen werden: Photoautotrophie.

Diese Erscheinung, d. h. die Unfähigkeit zur Verwertung organischer Nährstoffe, scheint bei den höher entwickelten Algen die Regel zu sein. Sie muß also im Verlauf der Evolution erworben worden sein, ein, wie mir scheint, bemerkenswerter Schluß, der aber noch durch weitere Untersuchungen gestützt werden muß. Nicht immer muß allerdings die höhere Differenzierung zum Überwiegen der Phototrophie führen.

Unter den einzelligen Volvocalen, z. B. in der Gattung *Chlamydomonas*, scheint die Mehrzahl vorwiegend phototroph zu sein (Lucksch 1932), wenn auch einige durch organische Stoffe gefördert werden (Lucksch 1932; Lwoff 1932) und die farblosen Parallelformen der Gattung *Polytoma* ganz heterotroph sind. Die davon abgeleiteten, höher entwickelten koloniebildenden Volvocaceen wurden bisher für autotroph gehalten, was aber, wie wir sehen werden, nicht richtig ist.

[1] Eine Ausnahme bilden viele im Inneren von Tieren lebende, morphologisch stark spezialisierte Flagellaten.

Auch bei den Diatomeen mit nur ein oder zwei chlorophyllfreien Arten und bei den Chlorococcaceen mit wenigen farblosen Gattungen sind nur die einfachsten heterotroph geworden.

Bei den Chlorophyceen gibt es die farblose Parallelgattung *Prototheca* zu der grünen, zur Mixotrophie neigenden *Chlorella* und das chlorophyllfreie *Hyaloraphidium* zu *Ankestrodesmus* (= *Raphidium*), während die kolonialen Gattungen *Pediastrum*, *Sorastrum*, *Scendesmus* u. a. nur grün bekannt sind, aber zum Teil sehr zur Heterotrophie neigen. Die mehr abgeleiteten Familien der Ulotrichaceen, Chaetophoraceen, Oedogoniaceen, Cladophoraceen usw. enthalten keine chlorophyllfreien Arten, ebensowenig die *Conjugales*, die meist streng autotroph zu sein scheinen. Die Braun- und Rotalgen sind, abgesehen von einigen Parasiten, alle phototroph. Ob es mixotrophe gibt, ist nicht bekannt. Hier treffen wir auf ein wichtiges Problem, für dessen Klärung noch viel Arbeit erforderlich ist. Man muß nämlich fragen: wie ist die strenge Autotrophie physiologisch zu begreifen, und wie ist sie im Verlaufe der Stammesgeschichte entstanden?

Wenn man die in großen Zügen bekannte Verteilung der verschiedenen Ernährungsarten im einzelnen verfolgen will, so trifft man, wie nicht anders zu erwarten, neben Lücken unserer Kenntnis und vielen Bestätigungen der angedeuteten Regeln auch auf Ausnahmen. Zunächst ist der Bedarf an Vitaminen auch innerhalb der Gattungen ungleich verteilt (Lwoff 1947, S. 105 für *Polytoma*). Bei *Euglena* meinen Hutner und Provasoli (1951, S. 97), allgemein einen Bedarf an Cyanocobalamin (B_{12}) erwarten zu dürfen. Noch immer ist dieser Schluß durch keine Belege für andere Arten gesichert. Die Versuche sind dadurch erschwert, daß bei den meisten Arten die Vermehrung ohne organische Stoffe, wie sie z. B. im Fleischextrakt enthalten sind, sehr spärlich zu sein pflegt.

Für verschiedene marine Flagellaten fanden Provasoli u. Pintner (1953) und Droop (1954) einen Bedarf an B_{12}, der auch bei *Ochromonas* allgemein zu sein scheint. Organismen, die ein oder mehrere Vitamine brauchen, weil sie sie nicht selbst synthetisch herstellen können, und die man auxotroph nennt, bieten dem Verständnis keine großen Schwierigkeiten.

Die Erfahrung, daß *Polytoma uvella* und *P. obtusum* im Gegensatz zu *P. ocellatum* keine Vitamine brauchen (Lwoff 1947), dagegen manche grüne Volvocineen sie nötig haben, spricht gegen die einfache Vorstellung des allmählichen Verlustes von Synthesevermögen im Verlaufe der Stammesgeschichte (Lwoff 1943). So gradlinig geht die Evolution offenbar nicht vor sich.

Nicht leicht zu erklären ist die Erfahrung, daß z. B. *Euglena gracilis* mit Asparagin besser gedeiht als mit Ammonstickstoff, weil doch auf

jeden Fall im Stoffwechsel ein völliger Umbau stattfinden muß. Die Ursache der besonderen Eignung von „Pepton" gegenüber Ammonstickstoff und einzelnen Aminosäuren wird sich durch Versuche mit Aminosäuregemischen unter Vitaminzusatz finden lassen, wahrscheinlich in dem Sinne, daß die Peptone „Wuchsstoffe" enthielten.

Für vollständige Heterotrophie, also bei Licht- oder Chlorophyllmangel, sind bei Flagellaten und Algen, im Gegensatz zu vielen anderen Mikroorganismen, der Regel nach auch neben organischen Stickstoffverbindungen, noch organische Säuren oder Kohlenhydrate nötig, als deren günstigste Vertreter Essigsäure und Traubenzucker gelten dürfen. Doch gibt es Ausnahmen: ein Selbstverdauungssaft aus Hefe, der weder Fettsäuren noch Zucker enthält, erlaubt üppige Entwicklung von *Ochromonas*- und *Monas*-Stämmen, sowie von *Polytoma* und *Polytomella*. Dabei werden die spezifischen Reservepolysaccharide Chrysose [früher Leukosin (Pringsheim 1952)] und Stärke in Menge gebildet. Ihre Synthese braucht also nicht über Fettsäuren zu gehen.

Bei Flagellaten ist die Verwertung von Acetat häufiger als die von Glukose (Pringsheim 1935; Lwoff 1951, S. 16 und 23); aber Zucker als Vorzugsnahrung findet man sogar bei einzelnen Vertretern solcher Verwandtschaftsgruppen, deren Mehrzahl ausgesprochene Azetatorganismen sind, z. B. bei Stämmen von *Euglena gracilis* und *Polytoma uvella* (im weiteren morphologischen Sinne) (Pringsheim 1954, 1955, 1956a) und bei *Chilomonas paramaecium*. Bei den Chrysomonaden ist Zuckerverwertung die Regel, z. B. bei allen geprüften Arten von *Ochromonas* und *Monas*. Die Annahme, daß Azetat gegenüber Zucker durchwegs vorgezogen wird, ist ein auf mangelnder Kenntnis beruhender Irrtum gewesen.

Wenn man ein System der Ernährungsarten aufstellen will, so begegnet man ähnlichen Schwierigkeiten wie bei einem taxonomischen System, wozu aber noch einige weitere kommen. Während man sich in der Taxonomie darüber einig ist, daß gewisse Merkmale: Zellorganisation, Morphologie Fortpflanzung, an erster Stelle zu berücksichtigen sind und Übergangsformen zwischen recenten Auszweigungen nicht erwartet werden können, fehlen vorläufig ähnliche Regeln bei der Ausbildung und Verteilung der verschiedenen Ernährungsarten.

Nur einige wenige Grundsätze können allgemeiner Zustimmung gewiß sein, z. B.: 1. Der Erwerb der Fähigkeit zur Photosynthese mit Hilfe echten Chlorophylls muß sehr weit zurückliegen und hat nur einmal stattgefunden. Alle chlorophyllführenden Lebewesen müssen also von gemeinsamen uralten Vorfahren abstammen. 2. Verhältnismäßig ursprüngliche Organismen zeigen eine größere Mannigfaltigkeit der Ernährung und häufiger die Neigung zur Verwertung organischer Nährstoffe neben der Photosynthese als abgeleitete. 3. Photoautotrophie,

also vollständige Abhängigkeit der Ernährung von der Kohlensäureassimilation, findet sich vorwiegend bei den höheren Algen, den Moosen, Lebermoosen, Gefäßkryptogamen und Blütenpflanzen. Sie ist deshalb nicht ursprünglich, sondern während der Evolution erworben.

Im einzelnen sind diese Grundsätze zum Teil in ihrer Anwendung unsicher, weil die Kenntnisse fehlen. Ich nahm auf Grund der Literatur an, daß die koloniebildenden Volvocaceen, die die höchste Entwicklungsstufe der Flagellaten darstellen, weil bei ihnen Arbeitsteilung zwischen den Zellen der Kolonie, Eibefruchtung und eine an die Gastrulaentwicklung der Tiere erinnernde Umstülpung der Tochterkolonien auftritt, photoautotroph seien. Das hat sich als falsch herausgestellt.

Es ist möglich, daß andere stark abgeleitete Algen, die bisher nicht in Reinkultur auf ihre Ernährung hin geprüft worden sind, ebenfalls zur Heterotrophie neigen. Es sind schon Anzeichen dafür vorhanden, daß manche nicht photoautotroph sind. Stämme von *Tribonema* sind z. B. ohne organische Verbindungen nicht zu gutem Gedeihen zu bringen. Bakterienfrei gewaschene Synzoosporen von *Vaucheria* entwickelten sich unter Bedingungen nicht weiter, unter denen solche mit Bakterien gut anwuchsen. Hier liegt noch ein unendlich weites Gebiet der Forschung brach, ohne dessen Bearbeitung manche physiologischen, ökologischen und selbst taxonomischen Schlüsse unsicher erscheinen.

Als ausgesprochen mixotroph, also mit organischen Nährstoffen sehr viel besser gedeihend, haben sich erwiesen: *Ochromonas malhamensis*, *O. danica*, *Euglena gracilis*, *E. viridis* var. *paludosa*, *E. stellata*, *Haematococcus pluvialis*, *Stephanosphaera pluvialis*, *Chlorogonium euchlorum*, *Chlorogonium elongatum*, manche *Chlamydomonas*-Arten und, zu meiner Überraschung, eine noch nicht beschriebene *Gonium*-Art. Alle diese können bei Gegenwart von Acetat neben Pepton und Fleischextrakt auch im Dunkeln gedeihen. Dabei ist zu beachten, daß manche Arten einen bestimmten p_H-Bereich beanspruchen, und daß meist die Konzentration der anorganischen und organischen Nährstoffe niedriger sein muß, als sie gewöhnlich gewählt werden.

III. Die Verbreitung der Mixotrophie bei den Flagellaten

Ich will nun versuchen, einen Überblick über die Ernährungsverhältnisse bei den Klassen der Flagellaten zu geben, soweit unsere Kenntnisse reichen. Eine große Zahl von Flagellaten, für welche Mixotrophie wahrscheinlich ist, ist bisher auf die Ernährung hin nicht untersucht worden.

1. Chrysomonaden. Hier herrscht eine verwirrende Mannigfaltigkeit schon unter den wenigen Formen, die ernährungsphysiologisch untersucht worden sind. Eine Vorliebe der Chrysomonaden für reine Gewässer wird zwar meist angenommen (Fritsch 1935, S. 506); aber sie ist nicht

allgemein. Für Arten von *Ochromonas* und *Chromulina*, die gelöste organische Stoffe und Teilchen aufnehmen und verwerten, trifft sie gewiß nicht zu. Auch für Arten von *Synura*, *Dinobryon* und *Mallomonas*, die im Plankton eutropher Teiche vorkommen, bietet reines, an organischen Verbindungen sehr armes Wasser nicht die geeigneten Lebensbedingungen. Bis 1952 war nur bekannt, daß *Synura* sich in Erdabkochung vermehrt, auch wenn Bakterien ausgeschlossen werden (Mainx 1929). Man durfte daraus auf Phototrophie schließen, aber nicht auf völlige Unabhängigkeit von organischen Substanzen. Provasoli und Pintner (1953) haben gefunden, daß *Synura* vitaminabhängig ist, und zwar ist B_{12} (Cobalamin) unentbehrlich. Eine *Mallomonas*-Art erwies sich in der Reinkultur in ihrem Gedeihen abhängig von Zucker und Vitaminen (unveröffentlichte eigene Versuche).

Die Reinzüchtung von *Ochromonas malhamensis* und anderen blaß gefärbten Formen aus ihrer Verwandtschaft (Pringsheim 1952) deckte sehr verwickelte Ernährungsverhältnisse auf, die besonders dadurch schwer übersehbar sind, daß die Arten dieser Gattung geformte Nahrung aufzunehmen pflegen. Auch abgesehen davon konnte bisher kein Stamm von *Ochromonas* rein phototroph ernährt werden; wenn es auch photosynthetisch besser ausgerüstete Arten als *O. malhamensis* gibt. Die bisher untersuchten Stämme brauchen eine organische Verbindung, am besten Zucker, als Energie- und Baumaterial, und außerdem Vitamine, die unter natürlichen Bedingungen von Beuteorganismen geliefert werden, im Versuch am leichtesten in Gestalt von Leberextrakt.

Ochromonas malhamensis stellt einen typisch mixotrophen Organismus vor, insofern als die Photosynthese, selbst unter günstigsten Umständen, nicht für den Unterhalt der sich vermehrenden Flagellaten ausreicht. Da dieser Organismus aber auch im Dunkeln wachsen kann, erweist er sich als ziemlich anpassungsfähig, ohne doch amphitroph zu sein, was die Möglichkeit der reinen Phototrophie einschließen würde.

Diese Befähigung findet sich bei einer neuerdings von mir isolierten Art, die ich provisorisch *Ochromonas minuta* nennen will, einer kleinen Form mit braun gefärbtem Chromatophor und Augenfleck. Ihre rein phototrophe Vermehrung ist nicht so reichlich, wie wenn die Nährösung Zucker enthält, genügt aber zur Erhaltung der Kultur auch bei wiederholter Umimpfung. In einer Nährlösung, wie sie für *O. malhamensis* geeignet ist, gedeiht *O. minuta* üppig und vermehrt sich auch im Dunkeln. Diese Art ist also amphitroph. Eine früher (Pringsheim 1955) beschriebene Art, *O. danica*, mit großem grünlichem Chromatophor steht zwischen den anderen beiden Arten und kann, wenn auch kümmerlich, phototroph leben.

In diesem Zusammenhang versprach eine koloniebildende Chrysomonade besonders interessant zu werden, die in einer Straßenpfütze mit

Herbstlaub gefunden wurde. Sie steht der von Korschikoff (1929) beschriebenen *Synochromonas pallida* sehr nahe, wenn sie nicht sogar mit ihr identisch ist. Wie der Name andeutet, fand Korschikoff bei seinem Material die Chromatophoren blaß gelblich, also etwa so, wie sie bei *Ochromonas malhamensis* sind. Er nahm an, daß die Ernährung vorwiegend animalisch sei.

Der von mir isolierte Stamm wies — weder aus der Natur entnommen, noch bei Fütterungsversuchen — Nahrungsvakuolen auf. Ich halte es für besser, ihm einen neuen Namen zu geben und ihn *Synochromonas korschikoffii* zu nennen, als einen Irrtum Korschikoffs anzunehmen. Die Neubenennung ist auch deshalb geboten, weil ich nie die vom Autor angegebene Reservesubstanz „Leukosin", besser Chrysose (Pringsheim 1952) finden konnte.

Die aus zahlreichen Zellen locker aufgebauten Kolonien von *Synochromonas* wurden durch Waschen von Bakterien befreit. Sie ließen sich in zuckerhaltigen Medien mit Pepton und Erdabkochung in Reinkultur zur Vermehrung bringen, im Dunkeln fast so gut wie am Licht. Sie wuchsen aber auch in anorganischen Nährlösungen mit Erdabkochung, wenn Vitamin B_1 (Aneurin) und Vitamin B_{12} (Cobalamin) zugesetzt wurden. Ein Ersatz für Erdabkochung wurde bisher nicht gefunden. Ohne Zucker ist die Vermehrung langsamer, die Lebensdauer der Kulturen aber größer, und die Chromatophoren sind nicht blaß, sondern goldbraun wie die anderer Chrysomonaden.

Hier hat sich also ein Organismus, der anfangs für mixotroph gehalten worden war, als amphitroph erwiesen, denn er kann auch mit der Photosynthese auskommen. Bei Zuckerernährung aber wächst *Synochromonas korschikoffii* heterotroph und ist dann wirklich blaß, wobei die Augenflecke besonders schön sichtbar werden, und zwar auch bei Dunkelkultur.

2. Cryptomonaden. Über die Ernährung von *Cryptomonas* und ihren Verwandten ist wenig bekannt. Wettstein (1921) erzielte Kolonien einer Art auf Agarplatten mit Torfabkochung, hat aber die Kulturen nicht für weitere Untersuchungen verwendet. Für *Cryptomonas ovata* var. *palustris* haben Provasoli u. Pintner (1953) einen Bedarf an Vitamin B_{12} angegeben. Das ist alles. Selbst die Ernährungsbedürfnisse der chlorophyllfreien Parallelgattung *Chilomonas* sind nur unvollkommen erforscht, denn die Stämme verhalten sich verschieden.

Die bisher geprüften 20 Isolate von *Cryptomonas* unterschieden sich physiologisch sehr deutlich, z. B. in dem meist recht engen p_H-Bereich, innerhalb dessen Vermehrung eintritt. Er bestimmt natürlich auch ihre ökologische Verbreitung. Sie alle wachsen in Reinkultur ohne Bakterien nur gut in Gegenwart organischer Substanzen; Erdabkochung genügt

dann nicht, sondern nur in Gegenwart von Bakterien. Eine Mischung von Acetat, Pepton, Hefeextrakt und Fleischextrakt, wie wir sie für *Euglena gracilis* verwenden, bewährte sich bei einigen Stämmen besonders gut, aber nur in starker Verdünnung. Manche Arten neigen mehr zur Heterotrophie als andere und vermehren sich auch im Dunkeln. Sie sind dann, so wie Chrysophyceen und Eugleninen, sehr blaß, vermutlich chlorophyllfrei, während bekanntlich die Volvocalen und Chlorococcalen auch im Dunkeln Chlorophyll bilden.

3. Dinomonaden. Diese, in ihren Ernährungsverhältnissen offensichtlich sehr mannigfaltige Klasse ist physiologisch, oder auch nur ökologisch, zu wenig untersucht worden, als daß eine Übersicht gegeben werden könnte. Es gibt im Meer und im Süßwasser unzählige Arten von Dinomonaden teils mit, meist braunen, Chromatophoren, teils farblos, manche mit animalischer Nahrungsaufnahme, andere ausschließlich photo- oder saprotroph, deren Extreme sich ganz wie Tiere oder ganz wie Algen verhalten.

Manche gefärbten Arten des Süßwassers, z. B. solche der Gattung *Peridinium*, lassen sich in Erdabkochung mit Nährsalzen gut zur Vermehrung bringen. Es ist gefunden worden (Provasoli u. Pintner 1953), daß ein Süßwasser-*Peridinium* und ein marines *Gyrodinium* Cobalamin und wahrscheinlich noch andere Vitamine brauchen. Weiter ist aber über ihre Ernährung nichts bekannt. Bei einer farblosen, saprotrophen Art aus dem Meer, *Gyrodinium cohnii*, gelang mir die Reinkultur in gemischten organischen Medien (Pringsheim 1956a, 1956b), und Provasoli (briefliche Mitteilung) bei einem ähnlichen Stamm sogar in einer etwas einfacheren Nährlösung. Ein Zusatz von Zucker scheint nötig zu sein. Aber Schlüsse auf gefärbte Dinomonaden darf man daraus nicht ziehen.

Inwieweit echte Mixotrophie oder auch Amphitrophie bei Dinomonaden vorkommt, ist nicht bekannt.

4. Euglenomonaden. Es scheint mir nicht ganz sicher, daß es obligat mixotrophe Eugleninen gibt. Alle bisher beschriebenen Arten der Gattungen *Euglena*, *Colacium*, *Eutreptia*, *Lepocinclis*, *Phacus* und *Trachelomonas* sind, mit Ausnahme weniger apoplastider Formen, im Besitz tiefgrüner Chromatophoren. Blasse Arten sind nicht bekannt, und Belege für das Vorhandensein von Euglenaceen, deren Assimilationsfähigkeit nicht ausreichte, fehlen.

Zwar haben Lwoff (1932) und Dusi (1933) für *Euglena klebsii* (= *E. mutabilis*), *Euglena anabaena* var. *minor*, *Euglena deses* (eigentlich *E. geniculata*) und *Euglena pisciformis* angegeben, daß sie auch am Licht ohne organische Nährstoffe nicht zur Vermehrung zu bringen sind; aber die genannten Arten wachsen im Dunkeln nicht, und diese Angaben

stammen aus der Zeit, bevor Hutner u. Mitarb. (1949) entdeckten, daß *Euglena gracilis* Vitamin B_{12} und, wie dann Robbins u. Mitarb. (1950, 1951) sicherstellten, auch B_1 braucht, nachdem schon Dusi [1939, nach Lwoff (1947)] es wahrscheinlich gemacht hatte, daß ein Vitamin-Bedarf vorliegt.

Ohne Berücksichtigung der Wahrscheinlichkeit, daß sich andere Arten von *Euglena* in dieser Hinsicht ähnlich verhalten, kann ihr Bedarf an organischen Nährstoffen nicht erforscht werden. Es ist sehr möglich, daß die organischen Nährstoffe, besonders das Fleischpepton, das Dusi so nötig fand, ebenso wie der Fleischextrakt, den Mainx (1927) mit Erfolg zur Reinzüchtung von Euglenenarten verwendet hat, vorwiegend durch ihren Gehalt an Vitaminen wirkten. Tatsächlich hat Dusi (1939, nach Lwoff 1947) angegeben, daß *Euglena pisciformis* Piramidin und Thiazol, die Komponenten von Vitamin B_1, braucht. Der Bedarf an dem nur in Spuren benötigten B_{12} ist ihm vielleicht entgangen.

Bei anderen Arten von *Euglena*, vor allem *E. gracilis*, treffen wir auf Übergangserscheinungen. Zwar können sich Stämme dieser Art, wenn ihnen die nötigen Nährsalze einschließlich Spurenelemente, sowie die Vitamine B_1 und B_{12} geboten werden, am Licht auf Grund der Photosynthese, also auxo-auto-phototroph, ernähren; aber die Entwicklung ist langsam. Schon Asparagin anstatt Nitrat als Stickstoffquelle erlaubt weit bessere Vermehrung, und eine zusätzliche C- und Energiequelle, z. B. Acetat, Apfelsäure, bei einigen Stämmen (Pringsheim 1954) auch Glucose, förden die Vermehrung stark. Man hat den Eindruck, daß *Euglena gracilis* erst beim Vorhandensein organischer Nährstoffe ihre volle Lebensenergie gewinnt, daß sie nur mit ihrer Hilfe den Wettbewerb in der Natur bestreitet und daß die phototrophe Lebensweise ihr kaum mehr bietet als die Möglichkeit, ungünstige Zeiten zu überstehen. Das wäre aber eine ähnliche Lage wie bei *Ochromonas malhamensis*, nur quantitativ etwas verschieden.

Euglena gracilis steht unter den Arten von *Euglena*, trotz vielem Suchen nach weiteren, zur Heterotrophie neigenden Arten, noch immer allein da. „*Euglena mesnili*", eine Varietät von *E. deses* (Pringsheim 1956 c), andere Stämme dieser Art und solche von *E. viridis*, können wohl unter Ausschluß der Photosynthese zur Vermehrung gebracht werden; sie gedeihen dann aber nur kümmerlich und können in dieser Hinsicht nicht mit *E. gracilis* verglichen werden. Sie sind auxophototroph mit einer gewissen Neigung zur Verwertung organischer Nährstoffe, nicht eigentlich mixotroph.

Über Reinkulturen anderer Euglenaceen ist in der Literatur fast nichts zu finden. Mainx (1927) hat *Colacium vesiculosum* unter dem Namen *C. cyclopicolum* in Fleischextraktlösung rein gezüchtet. Wir haben *Colacium vesiculosum* neuerdings, und auch *C. mucronatum* Bourrelly

rein kultiviert. Sie wachsen mit organischen Nährstoffen viel besser als photoautotroph und können auch im Dunkeln zur Vermehrung gebracht werden, verhalten sich also ähnlich wie die genannten Stämme von *Euglena viridis* und *E. deses*. Von der Üppigkeit einer optimalen Kultur von *E. gracilis* sind sie aber auch unter günstigsten Umständen weit entfernt. Ähnliches gilt für Reinkulturen einiger Arten von *Phacus* und *Trachelomonas*, deren Studium wir betreiben.

5. Volvocales. Die *Volvocales* sind in bezug auf die Verschiedenheiten in der Verwendung organischer Nährstoffe vielleicht die interessanteste Gruppe. Alle Möglichkeiten: Photoautotrophie, Photoauxotrophie, obligate Mixotrophie und Amphitrophie finden sich verwirklicht.

Dem Heer einzelliger Arten stehen verhältnismäßig wenige koloniale gegenüber, und unter diesen sind welche, die ganz verschiedene Standorte bewohnen. *Stephanosphaera* findet sich in zeitweilig eintrocknenden Steinmulden, *Volvox* in durchwärmten, pflanzenreichen Gewässern, *Pyrobotrys* in sehr verschmutztem Wasser, z. B. auf Rieselfeldern und in Klärteichen. Arten von *Gonium*, *Volvulina*, *Pleodorina* u. a. sind vorzugsweise aus trockenen Erdproben warmer Länder herausgezüchtet worden. Entsprechen ihre Ernährungsansprüche den dadurch erweckten Erwartungen?

Für *Eudorina elegans* und *Gonium pectorale* ist es bekannt, daß sie in mineralischen Nährlösungen beliebig lange fortgezüchtet werden können (HARTMANN 1921). Das beweist noch nicht, daß sie photoautotroph sind, wie bisher angenommen worden ist. Wir haben wiederholt gefunden, daß chlorophyllhaltige Organismen nach Ausschaltung aller fremden Lebewesen in den gleichen anorganischen Lösungen nicht mehr gediehen, in denen sie sich bisher vermehrt hatten. HAMBURGERs (1958) Ergebnisse mit *Volvox aureus* bestärken diesen Eindruck. Man muß an die Möglichkeit denken, daß in den Kulturen anwesende Bakterien unentbehrliche organische Nährstoffe liefern.

Wenn schon in reinstem destilliertem Wasser Bakterien genug Vitamin B_{12} liefern, um nach Sterilisation *Euglena gracilis* die Vermehrung zu ermöglichen (ROBBINS u. Mitarb. 1953), wie viel leichter können Bakterien in einer mineralischen Nährlösung in Gesellschaft von Algen deren Stoffwechsel mit Substanzen versehen, die diese nicht selbst zu synthetisieren vermögen. Solche, seit alters her in der Literatur auftauchende Vermutungen sind durch die Vitaminforschung ihres mysteriösen Beigeschmackes entkleidet worden, weil wir nun wissen, daß es sich nicht um Bau- und Betriebsstoffe handelt, sondern um Co-Fermente u. ä., die ihre katalytische Wirkung schon bei stärkster Verdünnung ausüben können.

Was die koloniebildenden *Volvocales* anbelangt, so waren sie nur zum kleinen Teil auf ihre Ernährung hin untersucht worden. Die meisten

wurden nie in Reinkultur gezogen. Bei *Pyrobotrys* ist das mehrfach versucht worden, aber ohne Erfolg (Jacobson 1910, Strehlow 1929). Für *Volvox* liegen die alten Versuche von Uspenski und Uspenskaja (1923) vor, aus denen ersichtlich ist, daß die verfügbare Eisenmenge einige Bedeutung für das Gedeihen hat. Die Betonung der Notwendigkeit von Komplexbildnern —bei Uspenski Citrat — für die Eisenversorgung, hat Schule gemacht. Bei einer Nachprüfung und Ergänzung habe ich (Pringsheim 1930) gefunden, daß nicht, wie Uspenski meinte, jede organische Substanz im Wasser das Eisen in Lösung hält, und daß man in Erdabkochung mit größerer Sicherheit und größerem Erfolg *Volvox* züchten kann als in der Uspenskischen Lösung, die außer Citrat keine organischen Verbindungen enthält. Da man damals nichts von Vitaminen, Chelatisierung und Spurenelementen gewußt hat, waren diese Untersuchungen mangelhaft geblieben und mußten neu aufgenommen werden.

Dies war um so nötiger, als *Volvox* als ein ausgeprägtes Beispiel eines phototrophen Organismus gelten konnte, und dasselbe für die übrigen Volvocaceen angenommen werden durfte, da es für *Gonium* und *Eudorina* als bewiesen anerkannt wurde.

a) Chlamydomonadaceae. Nur wenige Arten der einzelligen grünen Volvocalen sind ernährungsphysiologisch untersucht worden. Über grüne Polyblepharidaceen ist wenig bekannt. Die Untersuchungen in der morphologisch und physiologisch mannigfaltigen Gattung *Chlamydomonas* liegen meist weit zurück (Lucksch 1932; Lwoff 1932). Bei Berücksichtigung des Bedarfes an Spurenelementen, und vielleicht auch Vitaminen, wären wertvolle Ergebnisse zu erzielen. Schon jetzt kann man sagen, daß es Arten gibt, die organische Nährstoffe verwerten und dann auch im Dunkeln wachsen, wie *Chlamydomonas ehrenbergi* (Artari 1913), *Chl. agloeformis* (Lwoff 1929, 1932), *Chl. pseudagloe* (Lucksch 1932), und andere, die autotroph sind, wie *Chlamydomonas moewussii* (J. C. Lewin 1950) und *Mesostigma viride* (eigene Untersuchungen).

Warum bei *Chl. moewussii* die Produkte der Photosynthese nicht durch organische Nährstoffe ersetzt werden können, ist unklar. Der Organismus oxydiert im Dunkeln Acetat, Brenztraubensäure und Bernsteinsäure (J. C. Lewin 1950), woraus hervorgeht, daß diese Verbindungen eindringen und in den Stoffwechsel gerissen werden. Der Frage, ob bei dieser Art vielleicht das Licht aus anderen Gründen als wegen seiner Wirkung bei der Photosynthese unentbehrlich ist, wurde bisher nicht nachgegangen.

Etwas mehr ist über *Chlorogonium* bekannt, eine Gattung, von der jedoch nur wenige der vielen Arten auch nur zureichend beschrieben worden sind (Pascher 1927; Skuja 1948, 1956, und die von ihnen angegebene Literatur). Kaum mehr als eine ist physiologisch untersucht worden (Pringsheim 1937; dort auch Literatur). Einige Stämme,

die dem Typus der Arten *Chl. euchlorum* und *Chl. elongatum* nahestehen, nähern sich *Euglena gracilis* dadurch, daß sie vorzugsweise in Wasser leben, das durch tierische oder pflanzliche Abfälle verunreinigt ist.

Diese Arten von *Chlorogonium* vermehren sich gut nur mit organischen Nährstoffen (und dann auch im Dunkeln), sind also mixotroph. Es gibt aber auch Stämme, die sich ganz auf die Photosynthese verlassen und die sich auch morphologisch von den erstgenannten unterscheiden. Die Arten mit großen Zellen scheinen sich physiologisch *Chlorogonium elongatum* anzuschließen.

Ein ganzer Schwarm einander ähnlicher Formen, die meist nur 2 Pyrenoide haben wie *Chl. elongatum*, aber in älteren Zellen auch mehr, so wie *Chl. euchlorum*, das hinwiederum in jungen Zellen auch nur 2 haben kann, sind physiologisch wenig verschieden. Sie haben eine Neigung zur Heterotrophie und vermehren sich ohne organische Nährstoffe nur langsam. Ein Vitaminbedarf ist bisher nicht festgestellt worden.

Haematococcus pluvialis (Lwoff u. Lwoff 1929; Lwoff 1932; Droop 1954a und b, 1955) ist eine oft untersuchte Art, die aber noch manche Frage aufgibt. Unter den zahlreichen, von verschiedenen Autoren isolierten Stämmen gibt es kleine Unterschiede im physiologischen Verhalten. Vitamine werden nicht gebraucht. Die Beigabe von Spurenelementen muß aber berücksichtigt werden, und es ist schwer zu verstehen, wie ältere Autoren ohne sie auskommen konnten. Droop (1954) fand die Vermehrung sehr träge, so daß er schließt, daß in der Natur dichtere Ansammlungen von alten Palmellen herrühren, die durch Zufuhr frischen Wassers zum Ausschlüpfen gebracht worden sind.

Der Zustand der Populationen ist an der Färbung erkennbar. Gewöhnlich wird die rote Farbe für charakteristisch gehalten. Bei guter Vermehrung geht die rote Färbung zurück und die Zellen können grün aussehen (Wollenweber 1908). Reiche Stickstoffversorgung vor allem erzielt fast rein grüne Zellmassen, die kaum als *Haematococcus* zu erkennen sind, zumal dann auch die Protoplasten die Zellen mehr ausfüllen. Bei Zufuhr organischer Nährstoffe tritt weit üppigere Entwicklung auf als in mineralischen Medien, und die Zellen werden ganz grün, unter völligem Verschwinden des roten Pigmentes. Auf dem von uns für *Euglena gracilis* verwendeten Agar vermehren sich alle Stämme von *Haematococcus pluvialis* sehr gut mit tiefgrüner Farbe ohne Andeutung einer Verfärbung nach oliv, wie sie durch die Gegenwart des „Hämatochroms" bewirkt wird. An natürlichen Standorten wird *Haematococcus* oft von Vogelexkrementen gedüngt.

b) Volvocaceae. In dieser Familie pflegt man die koloniebildenden Gattungen zusammenzufassen (vgl. Tabelle 1). Ich will hier auch diejenigen Formen behandeln, deren Verwandtschaft mit *Volvox* zweifelhaft ist, wie *Stephanosphaera*, die *Balticola droebakensis* Droop

Tabelle 1

Koloniebildende *Volvocales*, die zu den Versuchen verwendet worden sind.

I. *Stephanosphaeraceae*
einzellig *Balticola droebakensis* (Wollenweber) Droop
Balticola buetschlii (Blochmann) Droop
Stephanosphaera pluvialis Cohn
II. *Spondylomoraceae*
Pyrobotrys gracilis Korschikoff . . . . . 2 Stämme
Pyrobotrys squarrosa (?) Korschikoff
Pyrobotrys stellata Korschikoff
Pyrobotrys spec.
Pyrobotrys globuligera n. prov.
Pascheriella tetras Korschikoff
III. *Volvocaceae*
Astrophoneme gubernaculifera Pocock
Eudorina elegans Ehrbg. . . . . 5 Stämme
Gonium multicoccum Pocock . . . . . 2 Stämme
Gonium octonarium Pocock . . . . . 3 Stämme
Gonium pectorale Müller . . . . . 4 Stämme
Gonium quadratum n. prov.
Gonium sacculiferum Scherffel . . . . . 2 Stämme
Gonium sociale (Dujard.) Warming . . . . . 3 Stämme
Pandorina morum (Müller) Bory . . . . . 2 Stämme
Pleodorina californica Shaw
Pleodorina illinoiensis Kofoid . . . . . 2 Stämme
Volvox aureus Ehrbg.
Volvox globator (L.) Ehrbg.
Volvox tertius Meyer
Volvulina steinii Playfair . . . . . 3 Stämme

Die Beschreibung und Herkunft dieser Stämme, die alle bis auf 2 von *Pyrobotrys* reingezüchtet wurden, soll später folgen. Sie gehören zu 3 Familien, 11 Gattungen und 23 Arten. Es handelt sich um 41 Stämme, bei den heterothallischen z. T. in zwei Geschlechtern.

(früher *Haematococcus droebakensis*) nahesteht, sowie *Pascheriella tetras* und *Pyrobotrys stellata*, welche beiden man mit Skuja (1956) zu einer eigenen Familie stellen sollte.

Stephanosphaera wird durch Acetat sehr gefördert und braucht die Vitamine B_1 und B_{12}. Ein kleiner Zusatz der in unserer *Euglena gracilis*-Lösung zusammengemischten Nährstoffe bewirkt reichste Vermehrung der dann besonders gesund aussehenden Kolonien und erlaubt Wachstum im Dunkeln. *Stephanosphaera* darf also als mixotroph bezeichnet werden. Dabei sind ebenso wie bei *Euglena gracilis* und *Chlorogonium elongatum* schön grüne Chromatophoren vorhanden, von denen man annehmen sollte, daß sie eine ausgiebige Photosynthese gewährleisteten; es vermehrt sich aber ohne organisches Substrat so gut wie gar nicht. Die Notwendigkeit einer besonderen Energiequelle ist überraschend. Am natürlichen Standort dürfte *Stephanosphaera*, wie *Haematococcus pluvialis* und *Balticola droebakensis* Stoffe aus Vogelexkrementen verwerten.

Die Bedürfnisse von *Pyrobotrys* blieben lange rätselhaft. JACOBSON (1910) züchtete einen Stamm aus Erde in Faulkultur mit Fibrin und konnte Vermehrung auch auf Agarplatten mit verdünnter mineralischer Nährlösung erzielen; die Kolonien blieben aber sehr klein. Von drei Stämmen, die ich geprüft habe, konnte von zweien aus England einer in Reinkultur gar nicht, einer nur in einem Gemisch von Glucose, Hefeautolysat und Fleischextrakt und der dritte von Florida verhältnismäßig gut in verdünnter *Euglena gracilis*-Lösung zur Vermehrung gebracht werden. In Faulkulturen, am besten mit Stückchen von Erbsenkeimblättern unter der Erde, wachsen alle drei Stämme sehr reichlich. Die Mindesterfordernisse sind noch nicht klar. Photoautotrophie scheint gar nicht möglich zu sein, aber ebensowenig Dunkelkultur. *Pyrobotrys* ist deshalb als mixotroph mit einem Bedürfnis nach z. T. noch unbekannten organischen Nährstoffen anzusehen.

Anders die verwandte *Pascheriella tetras* Korsch. Sie ist auxophototroph, d. h. sie vermehrt sich am Licht in einer anorganischen Nährlösung mit Spurenelementen; aber nur in Gegenwart von Vitamin B_1 und Vitamin B_{12}. Acetat verbessert die Vermehrung erheblich. Diese Ernährungsbedürfnisse sind typisch für die meisten der untersuchten koloniebildenden Volvocineen.

Die Arten von *Gonium* verhalten sich verschieden. Eine neue Art von einem Gartenbeet, die wegen der Gestalt der Kolonien *G. quadratum* genannt werden soll, fiel dadurch auf, daß sie in einer Erdfaulkultur mit Erbsenkeimblatt im Dunkeln auftrat. Die Kolonien waren blaßgrün, aber sonst ganz normal und blieben in solchen Dunkelkulturen fast ein Vierteljahr in Bewegung. Am Licht gediehen sie in sonst gleichartigen Kulturen noch besser und hatten schön grüne Chromatophoren. Die Reinkultur gelang, ausgehend von gewaschenen Kolonien, ganz leicht in einer Nährlösung mit Natriumacetat, Pepton und Fleischextrakt, aber nur bei niedriger Konzentration. Die neue Art vermehrte sich darin auch im Dunkeln, wenn auch die Kolonien nicht so lange am Leben blieben wie am Licht oder in Faulkulturen.

Das Bemerkenswerte ist, daß *Gonium quadratum* wie *Stephanosphaera* ohne organische Nährstoffe auch am Licht, selbst in den besten mineralischen Nährlösungen und unter Zusatz von Erdabkochung nicht zur Vermehrung gebracht werden konnte. Ohne organische Faulstoffe wurde nicht einmal in Erde-Wasser-Röhrchen der verschiedensten Zusammensetzung ein Gedeihen erzielt.

Anders verhielten sich Stämme von *Gonium pectorale* aus England, Amerika und Deutschland. Sie wuchsen gut ohne organische Zusätze, konnten aber im Dunkeln auch mit der für *G. quadratum* geeigneten Mischung nicht zur Vermehrung gebracht werden, und auch am Licht war sie langsam. Diese Stämme sind also auf Photosynthese angewiesen.

Dasselbe gilt für drei Stämme von *Gonium sociale*, sowie *G. multicoccum* und *G. octonarium*.

Das neue *Gonium quadratum* stellt also innerhalb der Gattung eine Ausnahme dar. Es ist ausgesprochen mixotroph und hat die Fähigkeit, mit einer exogenen Energiequelle auch im Dunkeln auszukommen. Dadurch unterscheidet es sich von *Pyrobotrys*, die bei Ausschluß der Photosynthese nicht zur Vermehrung zu bringen war. Von *Chlorogonium* ist das neue *Gonium* physiologisch dadurch verschieden, daß es auch am Licht eine besondere Energiequelle braucht, also nicht amphytroph ist.

Es hat sich gezeigt, daß die meisten Volvocaceen auf organische Zusatznahrung angewiesen sind. Sehr auffallend ist das bei *Volvulina* und *Astrophoneme*. Beide sind, wie auch *Gonium octonarium* (Pocock 1955 und briefliche Mitteilung) bei ihrem Erscheinen nach Übergießen von Erdproben mit mineralischer Nährlösung auffallend durch ihre blasse Farbe. Tatsächlich ist *Volvulina* auch am Licht in Reinkultur oft fast weiß, nur mit einem grünlichen Schimmer[1]. Die Chromatophoren sind dann kaum zu erkennen, die Zellen voller Stärke. Wenn das Acetat aus der Lösung fortgelassen wird, tritt keine Vermehrung ein. *Volvulina* und *Astrophoneme* sind daher mixotroph.

Von 23 Arten koloniebildender Volvocalen (vgl. Tabelle) wurden nur *Eudorina*, einige *Gonium*-Arten und *Pleodorina californica* nicht durch Acetat gefördert. Die übrigen wachsen besonders gut in der verdünnten „*Euglena gracilis*-Lösung", z. B. 0,02% Natriumacetat, 0,04% Tryptose-Pepton, 0,02% Hefeextrakt und 0,02% Fleischextrakt bei schwach basischer Reaktion, vor allem wenn sie durch Erdabkochung, KNO_3, K_2HPO_4, $MgSO_4$ und Spurenelemente ergänzt wird, alles in niedriger Konzentration.

Dieser Mischnährlösung kam kein vollsynthetisches Medium gleich. Bei Verwendung einer schwachen mineralischen Nährlösung mit Spurenelementen und 0,05—0,2% Natriumacetat konnte aber nach mehrmaliger Überimpfung in besonders sorgfältig rein hergestellte Lösungen ein Vitaminbedarf festgestellt werden, außer bei *Gonium pectorale* und *Eudorina elegans*, d. h. denjenigen Arten, die am frühesten mit Erfolg im Laboratorium gezüchtet worden sind.

Vor allem ist es das Cobalamin (B_{12}), das meist gebraucht wird. Ob auch das Aneurin (B_1) allgemein unentbehrlich ist, konnte wegen der großen Zahl der zu prüfenden Arten noch nicht festgestellt werden. In einigen Fällen ist dies sicher der Fall. Auch haben wir Anzeichen dafür, daß noch weitere Vitamine wirksam sein können, z. B. Biotin und Pantothensäure.

[1] Auch *Chlorogonium elongatum* ist bei reicher Vermehrung in Nährlösungen mit organischen Nährstoffen anfangs fast weiß.

Die Unentbehrlichkeit einer besonderen Energiequelle, als welche meist Acetat verwendet wurde, und die ausgesprochene Förderung durch *Euglena gracilis*-Lösung gilt auch für die geprüften Arten von *Volvox*. Stämme, die als *V. globator*, *V. aureus* und *V. tertius* bestimmt waren, wurden mir dankenswerterweise aus der Cambridger Sammlung von Algenkulturen überlassen. Sie konnten durch Waschen junger Kolonien von Bakterien befreit und zur schönsten Entwicklung gebracht werden. Die Kulturen sind an Dichte und gesundem Aussehen denen, die nach Uspenski und Uspenskaja (1925) oder in Erdabkochung (Mainx 1929, Pringsheim 1930) gezogen werden, weit überlegen. *Volvox globator* war etwas schwerer zu reinigen als die beiden anderen Stämme, so daß das Waschen nach einiger Zeit wiederholt werden mußte. Auch in Erde-Wasser-Röhrchen, in denen die Stämme schon viele Jahre weitergezüchtet werden, ist diese Art empfindlicher, in einem Göttinger Stamm ebenso wie in dem Cambridger. In der Reinkultur mit verdünnter *Euglena gracilis*-Lösung ist aber die Vermehrung sehr gut, und die Kolonien sehen gesund aus.

Somit dürfen diese *Volvox*-Arten, gleich der Mehrzahl der anderen Volvocaceen, unter die mixotrophen Flagellaten eingereiht werden. Der Grund, weshalb diese Zusammenhänge bisher unbekannt geblieben sind, ist die Vernachlässigung der Ausschließung von Bakterien, so daß organische Nährstoffe nicht verwendet werden konnten. Daß diese so stark verdünnt werden müssen, sollte eigentlich nicht überraschen. Es wiederholt sich hier dasselbe wie bei den anorganischen Nährsalzen, obgleich z. B. Matruchot u. Molliard schon 1902 0,03% und Artari (1904) sogar 0,005% Glucose fördernd für Algen gefunden haben. Und am natürlichen Standort können gewiß konzentriertere organische Nährlösungen nur sehr selten und örtlich eng begrenzt vorhanden sein!

Man wird sich an den Gedanken gewöhnen müssen, daß viele Organismen nicht nur Vitamine, sondern auch vorbereitete organische Nährstoffe in Ergänzung ihres photosynthetischen Stoffgewinnes nötig haben, um zu gedeihen. Dieser Umstand erklärt die oft überraschend schnelle Vermehrung mancher Volvocaceen an geeigneten Standorten.

Die am ausgeprägtesten mixotroph veranlagten Arten, wie *Gonium quadratum*, *Volvulina* und *Astrophonema*, lassen durch ihre oft blasse Farbe ein Zurücktreten der Photosynthese erkennen. Es ist mir berichtet worden, daß in Indien ganz farblose Gonien vorkommen, was — falls es sich nicht etwa nur um blasse Populationen normal chlorophyllhaltiger Arten handelt — nach dem Gesagten nicht mehr wundernehmen kann. Solche bei reicher Nährstoffversorgung fast ganz heterotroph lebenden Formen, wie *Volvulina*, wachsen dann überaus schnell. Nach 2 Tagen kann, nach Beimpfung mit einem Tropfen einer alten Kultur auf 8 cm^3 Nährlösung, bei Zimmertemperatur schon eine deutliche Vermehrung

bemerkt werden. Andere Arten, z. B. *Gonium pectorale* und *Pandorina morum*, konnten auf keine Weise zu beschleunigtem Wachstum gebracht werden. Das kann am Übersehen wichtiger Vermehrungsbedingungen gelegen haben; aber sie werden durch Acetat jedenfalls nicht gefördert.

Eine Prüfung weiterer Nährstoffe und Vitamine sowie anderer Lebensbedingungen bei mehr Flagellaten wäre eine lohnende Aufgabe, die aber größere Mittel und mehr Mitarbeiter erfordern würde, als mir zur Verfügung stehen.

IV. Rückblick und Ausblick

Viele chlorophyllführende Flagellaten vermehren sich, wie dargelegt, nur dann lebhaft, wenn ihnen organische Nährstoffe zur Verfügung stehen. Manche können selbst am Licht ohne sie überhaupt nicht gedeihen. Je vielseitiger die Gesichtspunkte sind, unter denen die Ernährung der Flagellaten untersucht wird, um so bunter wird das Bild.

Man könnte wohl ein auf Grund der neuesten Ergebnisse verbessertes, übersichtliches System der Ernährung aufstellen; aber es ist schwer, die einzelnen Fälle eindeutig durch Beispiele zu belegen. Es gibt zu viele Übergangserscheinungen. Zudem ist eine auch nur annähernde Vollständigkeit in der Untersuchung so zahlreicher biologischer Typen unerreichbar, solange derartige Fragen nur in ganz wenigen Laboratorien bearbeitet werden. Bevor die Fächer eines derartigen Systems gefüllt wären, würde es schon einer Umformung bedürfen.

Wenn man auch meint, so ziemlich alle Möglichkeiten bedacht zu haben, so daß bei den noch nicht untersuchten Flagellaten nur eine Wiederholung der bekannten Ernährungsweisen zu erwarten wäre, so muß man doch stets auf Überraschungen gefaßt sein, denn die Natur ist unerschöpflich.

Vorläufig kann man, bei vorhandener Photosynthese, etwa die folgenden gemischten Ernährungsformen unterscheiden:

a) Auxo-amphitroph sind *Euglena gracilis* und Varietäten von *E. viridis* und *E. deses*.

b) Auto-amphitroph sind *Chlamydomonas*- und *Chlorogonium*-Arten. Nicht alle diese wachsen gut ohne organische Nährstoffe, auch am Licht.

c) Mixo-amphitroph sind *Stephanosphaera pluvialis*, *Gonium quadratum* und *Volvulina steinii*, die mit geeigneten organischen Nährstoffen und Vitaminen im Dunkeln wie am Licht gedeihen, aber nicht fähig sind, autotroph zu leben.

d) Obligat auxo-mixotroph scheinen Stämme von *Pyrobotrys* zu sein, die auch am Licht nur in Gegenwart einer geeigneten organischen Energiequelle gut wachsen und im Dunkeln überhaupt nicht zur Vermehrung zu bringen waren. Eine schwache Entwicklung unter auxo-phototrophen Bedingungen wurde zuweilen erzielt.

e) Zoo-hetero-amphitroph sind *Ochromonas malhamensis* und andere Arten der Gattung, die sich in Abwesenheit geformter Nahrungsteilchen etwa wie *Gonium quadratum* verhalten, aber dazu die Fähigkeit zur Zootrophie besitzen. Auch liegt der Bedarf an Energiematerial etwas anders.

Eine ganze Anzahl von Flagellaten können zwar zur Not ohne organische Nährstoffe auskommen, vermehren sich dann aber bestenfalls nur schwach und oft nur vorübergehend. Zum normalen Gedeihen, wie es zum Wettbewerb in der Natur nötig ist, muß ihre Photosynthese durch die Verwertung organischer Energiesubstrate ergänzt werden. So ist es z. B. bei *Ochromonas danica*, *Ochromonas minuta*, *Chlorogonium elongatum* und anderen Arten der Gattung, manchen Vertretern von *Chlamydomonas*, z. B. *Chl. agloeformis*, bei *Haematococcus pluvialis*, *Balticola droebakensis*, *Stephanosphaera pluvialis*, *Volvulina steinii*, *Gonium octonarium*, *Gonium quadratum* und sicher vielen anderen.

Unter den Energiesubstraten erweisen sich immer wieder Traubenzucker und besonders Acetat als die besten, auch für chlorophyllhaltige wie für farblose Flagellaten. Wenn diese Nährstoffe nicht geeignet sind, besteht wenig Aussicht, organische Verbindungen zu finden, mit deren Hilfe ein Flagellat in Reinkultur gezogen werden kann, für den bisher nur die Erde-Faulkultur oder überhaupt keine Züchtungsverfahren erfolgreich war.

Wie zuerst Lwoff (1932) erkannt hat, gilt die Notwendigkeit besonderer Energiesubstrate neben organischen Stickstoffquellen vor allem für solche farblosen Flagellaten — „Leukophyten" nach Lwoff —, die chlorophyllhaltigen nahestehen. Hierher gehört z. B. *Polytoma*, bei dem Acetat zuerst als spezifische Nährverbindung erkannt worden ist (Pringsheim 1921). Nachdem dasselbe sich bei einer Anzahl weiterer farbloser Flagellaten, z. B. *Chilomonas*, *Polytomella*, *Astasia longa* erwiesen hatte, so daß eine allgemeine Regel vorzuliegen schien, wurde viel später gefunden, daß Chrysophyceen (Pringsheim 1952) und als Ausnahme auch einige *Volvocales* und Eugleninen (Pringsheim 1954) Glucose verwerten.

Oft ist jedoch die Darbietung einer besonderen C-Quelle bei Ernährung mit geeigneten organischen N-Verbindungen nicht durchaus nötig. *Chilomonas paramaecium* und *Euglena gracilis* (einschließlich der farblosen Form *Astasia longa*) können z. B. sehr gut mit Pepton und Fleischextrakt ernährt werden, *Polytoma* und *Polytomella* (Pringsheim 1955) mit Hefeautolysat. Bei mehr abgeleiteten, also mit phototrophen Flagellaten nicht näher verwandten Lebewesen, die Lwoff als die eigentlichen „Protozoen" den „Leukophyten" gegenüberstellt, werden Eiweißabbaustoffe bevorzugt, wie der genannte Autor dargelegt hat.

Die Ernährung mit Hilfe von Proteinen oder deren Spaltprodukten ist für sehr viele Bakterien, für farblose Cyanophyceen, wie *Beggiatoa*, *Vitreoscilla* und *Leucothrix*, für manche Pilze, Ciliaten usw. die einzig mögliche. Neben bestimmten Aminosäuren oder deren Gemischen sind gewöhnlich noch Vitamine, oft wohl auch Nucleine erforderlich.

Wie die Beispiele von *Chilomonas*, *Polytomella* und *Astasia* zeigen, sind die Grenzen zwischen Leukophyten und Protozoen nicht so scharf,

wie Lwoff annahm. Auch hat er seine Theorie unnötig durch die Annahme belastet, daß alle Leukophyten Plastiden besitzen und daß diese für die Ausscheidung der festen Reservepolysaccharide nötig sind, die ihrerseits bei der Verwertung des Acetates eine Rolle spielen sollen. Diese Teile der Lwoffschen Lehre haben sich nicht bewährt. Ich habe deshalb den Ausdruck Hyalophyten vorgeschlagen (Pringsheim 1955), der nicht so belastet ist.

Die von anderen übernommenen Ergebnisse zusammen mit den von uns erarbeiteten betreffen noch immer nur eine kleine Auswahl der Flagellaten und lassen dazu alle anderen Gruppen von Organismen unberücksichtigt. Hierin liegt eine große Beschränkung, wahrscheinlich eine größere als in der Auswahl der gewählten Nährstoffe. Vielleicht gibt es unter den noch nicht geprüften photosynthetischen Flagellaten, unter den Algen, und möglicherweise auch unter Moosen, Farnpflanzen und Samenpflanzen solche, die, gleich den höchsten Vertretern der Flagellaten, organische Verbindungen verwerten können oder selbst nötig haben. Für die Laubblätter ist es ja bekannt, daß durch sie organische Nährstoffe aufgenommen werden können. Wenn aber auch da oder dort der Bedarf an organischen Nährstoffen über die einfachsten Lebensformen hinausgehen sollte, so wird doch kaum die Regel umgestoßen werden, daß die heterotrophe Ernährung im Laufe der Stammesgeschichte immer mehr zurückgetreten ist.

Die früher oft neben der Kohlenstoffheterotrophie aufgezählte Stickstoffheterotrophie, d. h. die Unfähigkeit, anorganische N-Verbindungen zu verwerten, wird wohl in vielen Fällen durch einen Bedarf an Vitaminen vorgetäuscht gewesen sein. Solche hängen Gemischen wie Erepton (Mainx 1927) und Peptone de viande Vaillant (Lwoff 1932) an und finden sich auch in anderen Peptonen in kleiner Menge, in Fleischextrakt und Hefeextrakt in größerer. Bei Darbietung der erforderlichen Vitamine, besonders solchen der B-Gruppe, wird sich oft Nitrat- oder Ammonstickstoff als brauchbar erweisen, wie es bei *Euglena gracilis* und zahlreichen *Volvocales* der Fall ist. Ihnen können aber unter vergleichbaren Bedingungen Aminosäuren überlegen sein. Eine Bevorzugung oder alleinige Brauchbarkeit der in den Peptonen enthaltenen großmolekularen Eiweißspaltprodukte gegenüber Aminosäuregemischen ist bisher m. W. nicht nachgewiesen. Ein Einbau von Polypeptiden ohne vorherige Zerlegung in Aminosäuren, Lwoffs (1932) Metatrophie, ist unwahrscheinlich.

Was die Vitamine anbelangt, so möchte ich die Fälle, in denen sie nötig sind, nicht in die Mixotrophie einordnen. Eine erste Übersicht ergibt, daß es viele chlorophyllhaltige Flagellaten gibt, für die B_1 und B_{12}, Biotin oder Pantothensäure oder aber gar kein Vitamin nötig ist. Für einen Bedarf an Cholin, Riboflavin, Folsäure und Nicotinamid

wurde kein Anhalt gefunden: Alle Arten vermehren sich gut in ihrer Abwesenheit. Das Aneurin, das beim Sterilisieren in alkalischer Lösung zerstört wird, und das Cobalamin, das nur in winzigen Mengen gebraucht und dessen Gegenwart (bedingt durch die Tätigkeit einer sehr geringen Zahl von Bakterien) leicht übersehen werden kann, erwiesen sich als besonders wichtig. Sie mögen durch unerkannte An- oder Abwesenheit in scheinbar gleichartigen Nährlösungen viel zur Verwirrung der Ergebnisse älterer Versuche beigetragen haben und können selbst bei Verwendung von Reinkulturen schon im Wasser vorhanden gewesen sein.

Bakterienfreie Reinkulturen sind bei Ernährungsversuchen unentbehrlich, auch wenn rein anorganische Salzgemische, sogenannte mineralische Nährlösungen, geprüft werden. Das ist früher nicht beachtet worden. Die Gegenwart von Bakterien ändert die Verhältnisse grundsätzlich. Es kann Photo-Autotrophie vorgetäuscht werden, wenn die Bakterien unentbehrliche Verbindungen, z. B. Vitamine liefern.

Dieses Ergebnis hat auch ökologische Bedeutung. Wenn z. B. in einem Gewässer gewisse Organismen nicht oder nur in sehr kleiner Menge auftreten, so braucht das nicht am Stickstoff- oder Phosphormangel zu liegen. Außer an die Spurenelemente, einschließlich Eisen, muß man auch an Vitamine und kleine Mengen organischer Säuren oder anderer Kohlenstoffverbindungen denken. Eine Beziehung zwischen dem Auftreten bestimmter Plankter und der durch chemische Analyse festgestellten Zusammensetzung des Wassers darf nicht immer erwartet werden.

Das Zusammenspiel verschiedener Organismen auch in scheinbar reinem Wasser wird sich allmählich seines Geheimnisses entkleiden lassen, aber nur durch eingehende Untersuchungen an ein- und mehrgliedrigen Reinkulturen. Die Ursachen von Massenproduktionen und Wasserblüten werden dann auch klarer werden. Das reiche Auftreten der *Volvox*-Arten ist jetzt schon einigermaßen verständlich. Sie werden durch Stoffe gefördert, die von Wasserpflanzen geliefert werden oder von absterbenden Pflanzenteilen herrühren.

Zusammenfassung

Der Begriff der Mixotrophie wird erörtert und dem der Amphitrophie, sowie anderen gemischten Ernährungsformen gegenübergestellt.

Eine größere Anzahl von chlorophyllführenden Flagellaten aus verschiedenen Klassen, nämlich Chrysomonaden, Cryptomonaden, Euglenomonaden und Volvocalen, wurde in Reinkultur auf ihre Ernährung hin untersucht. Dabei wurden die Förderung durch organische Nährstoffe, der Bedarf an Wuchsstoffen und die Mindesterfordernisse ins Auge gefaßt.

Nur wenige Flagellaten konnten photoautotroph zur Vermehrung gebracht werden. Meist stellte sich ein Bedarf an Vitaminen, nämlich

Aneurin oder Cobalamin oder beiden heraus. Auch Biotin und Pantothensäure können förderlich sein.

Daneben brauchen viele Flagellaten trotz Befähigung zur Photosynthese eine besondere Energiequelle, Zucker oder Acetat. Ob irgendwo organische Stickstoffquellen erforderlich sind, ist noch nicht festgestellt worden. Eine Förderung durch Aminosäuren ist häufig.

Unerwartet war, daß die meisten koloniebildenden Volvocalen, sowohl *Pyrobotrys*, *Pascheriella* und *Stephanosphaera*, als auch Volvocaceen im engeren Sinne bis hinauf zu *Volvox*, von dem drei Arten untersucht wurden, in Reinkultur nur bei Zufuhr kleiner Mengen organischer Nährstoffe gut gediehen.

Die Gegenwart von Bakterien darf auch bei Verwendung von rein anorganischen Nährlösungen nicht vernachlässigt werden. Es kann Photoautotrophie vorgetäuscht werden, weil die Bakterien unentbehrliche Verbindungen liefern. Dieses Ergebnis hat auch ökologische Bedeutung.

Ich möchte allen denen danken, die mich in der Inangriffnahme des Arbeitsplanes unterstützt haben, dessen erste Früchte hier dargeboten werden.

Die Folgenden haben mich mit lebendem Material unterstützt: Dr. M. Droop, E. A. George M.A., Dr. J. Gerloff, Dr. M. A. Pocock, Dr. J. Proskauer und Dr. R. D. Starr. Meine technische Assistentin, Frl. B. Perkuhn, hat mir technische Hilfe geleistet. Die Deutsche Forschungsgemeinschaft hat mir die Mittel gegeben, ohne die ich meine wissenschaftliche Arbeit nicht hätte fortführen können, meine Frau, Olga Pringsheim, hat viele der Reinzüchtungen und Kulturversuche übernommen. Besonderer Dank gebührt auch Herrn Prof. R. Harder, der uns bei sich aufgenommen und mir die Räume in seinem schönen neuen Institutsgebäude zur Verfügung gestellt hat.

Literatur

Artari, A.: Der Einfluß der Konzentration der Nährlösungen auf das Wachstum einiger Algen und Pilze. I. Jb. wiss. Bot. **40**, 593—613 (1904). — Zur Physiologie der Chlamydomonaden. I. Jb. wiss. Bot. **52**, 410—466 (1913). — Cramer, M. L., and J. Myers: Photosynthetic characteristics of *Euglena*. Amer. J. Bot. **37**, 677 (1950). — Growth and photosynthetic characteristics of *Euglena gracilis*. Arch. Mikrobiol. **17**, 384—402 (1952). — Droop, M. R.: Cobalamin requirement in Chrysophyceae. Nature (Lond.) **174**, 520 (1954). — Conditions governing haematochrome formation and loss in the alga *Haematococcus pluvialis* Flotow. Arch. Mikrobiol. **20**, 391—397 (1954b). — Some factors governing encystment in *Haematococcus pluvialis*. Arch. Mikrobiol. **21**, 267—272 (1955). — Dusi, H.: Pouvoir de synthèse de quelques Euglènes: Euglènes autotrophes et Euglènes hétérotrophes. C. R. Soc. Biol. (Paris) **105**, 837—840 (1930). — Recherches sur la nutrition de quelques Euglènes. I, II. Ann. Inst. Pasteur **50**, 550—597 (1933). — (1939) nach Lwoff 1947. — Étard, A., et R. Bouilhac: Sur le présence de chlorophylle dans une *Nostoc* cultivé à l'abri de la lumière. C. R. Acad. Sci. (Paris) **127**, 119 (1898). — Fritsch, F. E.: The structure and reproduction of the algae, vol. I, Cambridge 1935. — Gaffron, H.: Reduction of carbon dioxide coupled with the oxyhydrogen reaction in algae. J. gen. Physiol. **26**, 195—267 (1942). — Photosynthesis, photoreduction and dark reduction of carbon dioxide in certain algae. Biol. Rev. **19**, I (1944). — Hamburger, B.: Bakteriensymbiose bei *Volvox aureus*

Ehrenberg. Arch. Mikrobiol. **29**, 291—310 (1958). — HARTMANN, M.: Die dauernd agame Zucht von *Eudorina elegans*, experimentelle Beiträge zum Befruchtungs- und Todproblem. Arch. Protistenk. **43**, 223—286 (1921). — HEINRICHER, E.: Die grünen Halbschmarotzer. II. *Euphrasia. Alectorolophus, Odontitis.* Jb. wiss. Bot. **32**, 389—452 (1898). — Die grünen Halbschmarotzer. III. *Bartschia* und *Tozzia.* Jb. wiss. Bot. **36**, 665—752 (1901). — HUBER-PESTALOZZI, G.: Das Phytoplankton des Süßwassers. Die Binnengewässer, Bd. XVI/3. Stuttgart 1950. — HUTNER, S. H., and L. PROVASOLI: The Phytoflagellates. In: Biochemistry and Physiology of Protozoa, ed. A. LWOFF. New York 1951. — HUTNER, S. H., L. PROVASOLI, E. L. R. STOKSTAD, C. L. HOFFMANN, M. BELT, A. L. FRANKLIN and T. H. JUKES: Assay of antipernicious Anemia Factor with *Euglena.* Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **70**, 118—120 (1949). — JACOBSON, H. C.: Kulturversuche mit einigen niederen Volvocaceen. Z. Bot. **2**, 209—244 (1—35) (1910). — KORSCHIKOFF, A. A.: Studies of the Chrysomonads. I. Arch. Protistenk. **67**, 253—290 (1921). — LEWIN, J. C.: Obligate autotrophy in *Chlamydomonas Moewusii* Gerloff. Science **112**, No 2918, 652—653 (1950). — Heterotrophy in Diatoms. J. gen. Microbiol. **9**, 305—311 (1953). — LUCKSCH, I.: Ernährungsphysiologische Untersuchungen an Chlamydomonaden. Beih. bot. Zbl. **50**, Abt. I, 64—94 (1932). — LWOFF, A.: La nutrition de *Polytoma uvella* Ehrbg. et la pouvoir de synthèse des protistes hétérotrophes. Les protistes mètatrophes. C. R. Acad. Sci. (Paris) **188**, 114 (1929). — Recherches biochimiques sur la nutrition des protozoaires. Monographie de l'Institut Pasteur, Paris 1932. — L'Évolution physiologique. Étude des pertes de fonctions chez les micro-organismes. Paris 1943. — Some aspects of the problen of growth factors for *Protozoa.* Ann. Rev. Microbiol. **1**, 101—114 (1947). — Introduction to biochemistry of Protozoa. In: Biochemistry and Physiology of Protozoa, ed. A. LWOFF. New York 1951. — LWOFF, M., et A. LWOFF: Le pouvoir de synthèse de *Chlamydomonas agloeformis* et d'*Haematococcus pluvialis* en culture à l'obscurité. C. R. Soc. Biol. (Paris) **102**, 569—571 (1929). — MAINX, F.: Beiträge zur Morphologie und Physiologie der Eugleninen. I. Morphologische Beobachtungen, Methoden und Erfolge der Reinkultur. Arch. Protistenk. **60**, 305—354 (1927). — II. Untersuchungen über Ernährungs- und Reizphysiologie. Arch. Protistenk. **60**, 355—414 (1927). — Biologie der Algen. Tab. bot. **5**, 11—24 (1929). — MATRUCHOT, L., et M. MOLLIARD: Variations de structure d'une algue verte sous l'influence du milieu nutritif. Rev. gén. Bot. **14**, 193 et sequ. (1902). — PASCHER, A.: Volvocales = Phytomonadinae, Süßwasserflora Deutschlands, Österreichs und der Schweiz, Bd. 4. Jena 1927. — PFEFFER, W.: Pflanzenphysiologie, Bd. I, 2. Aufl. Leipzig 1897. — POCOCK, M. A.: Studies in North American Volvocales. I. The genus Gonium. Proc. Linn. Soc. Lond. **149**, 55—58 (1955). — PRINGSHEIM, E. G.: Zur Physiologie saprophytischer Flagellaten (*Polytoma, Astasia* und *Chilomonas*). Beitr. allg. Bot. **2**, 88—137 (1921). — Die Kultur von Micrasterias und Volvox. Arch. Protistenk. **72**, 1—48 (1930). — Über Azetatflagellaten. Naturwiss. **23**, 110—114 (1935). — Beiträge zur Physiologie saprophytischer Algen und Flagellaten. I. *Chlorogonium* und *Hyalogonium.* Planta (Berl.) **26**, 631—664 (1937). — On the nutrition of *Ochromonas.* Quart. J. micr. Sci. **93**, 71—96 (1952). — Über Zuckerflagellaten. Naturwiss. **41**, 1—3 (1954). — Kleine Mitteilung über Flagellaten und Algen. II. *Euglena gracilis* var. *saccharophila* n. var. und eine vereinfachte Nährlösung zur Vitamin B_{12}-Bestimmung. Arch. Mikrobiol. **21**, 414—419 (1955). — Mikrobiologische Untersuchungen. Forsch. Fortschr. dtsch. Wiss. **30**, H. 2 (1956a). — Microorganisms from decaying Seaweed. Nature (Lond.) **178**, 480—481 (1956b). — Contributions towards a monograph of the genus *Euglena.* Nova Acta Leopoldina, Leipzig **18**, Nr 125 (1956c). — PROVASOLI, L.: Persönliche Mitteilung 1957. — PROVASOLI, L., and I. J. PINTNER: Ecological implications of in vitro nutritional requirements of algal

Flagellates. Ann. N. Y. Acad. Sci. **56**, 839—851 (1953). — Robbins, W. J., A. Hervey and M. E. Stebbins: Studies on *Euglena* and Vitamin B_{12}. Bull. Torrey bot. Club **77**, 423—441 (1950). — Further observations on *Euglena* and vitamin B_{12}. Bull. Torrey bot. Club **78**, 363—375 (1951). — *Euglena* and vitamin B_{12}. In: Growth of Protozoa. Ann. N. Y. Acad. Sci. **56**, 818—830 (1953). — Skuja, H.: Taxonomie des Phytoplanktons einiger Seen in Uppland, Schweden. Symb. bot. Upsaliensis **9**, 3 (1948). — Taxonomische und biologische Studien über das Phytoplankton schwedischer Binnengewässer. Nova Acta Reg. Soc. Sci. Upsaliensis **4** (1956). — Strehlow, K.: Über die Sexualität einiger Volvocales. Z. Bot. **21**, 625—692 (1929). — Uspenski, E. E., u. W. J. Uspenskaja: Reinkultur und ungeschlechtliche Fortpflanzung von *Volvox minor* und *V. globator* in einer synthetischen Nährlösung. Z. Bot. **17**, 273—308 (1925). — Wollenweber, W.: Untersuchungen über die Algengattung *Haematococcus*. Ber. dtsch. bot. Ges. **26**, 238—298 (1908).

Prof. Dr. E. G. Pringsheim,
Sammlung von Algenkulturen, Pflanzenphysiologisches Institut der Universität,
Göttingen, Nikolausberger Weg 18

Planta, Bd. 52, S. 431—446 (1958)

Aus dem Institut für Landwirtschaftliche Botanik der Universität Bonn

URSACHEN DER FROSTRESISTENZ BEI WINTERWEIZEN

II. Mitteilung

DIE BEDEUTUNG VON AMINOSÄUREN UND PEPTIDEN FÜR DIE FROSTRESISTENZ

Von

ULRICH HEBER

Mit 9 Textabbildungen

(Eingegangen am 22. September 1958)

Einleitung

Der Aminosäure- und Peptidspiegel der Pflanze in seiner Relation zur Frostresistenz ist in zweifacher Hinsicht interessant: Vor allem Peptide können möglicherweise als hydrophile Agentien eine Schutzfunktion gegen die Entwässerung des Plasmas durch Frost ausüben. Sie könnten so — ähnlich, wie das für Zucker festgestellt werden konnte (ULLRICH und HEBER 1958) — die Denaturierung von Plasmaeiweißen verhindern.

Betrachtet man jedoch nicht den Einfluß von Schutzstoffen auf die frostempfindlichen Bestandteile der Zelle beim Frost, sondern das Verhalten der Plasmaeiweiße selbst, so könnte der Aminosäure- und Peptidspiegel möglicherweise Antwort auf die Frage nach der Wirkung des Frostes geben, da die empfindlichen Bausteine der Zelle, die Plasmaproteine, zum erheblichen Teil selbst aus Peptiden und weiter aus Aminosäuren aufgebaut sind und damit der Aminosäurespiegel der Pflanze in Zusammenhang stehen kann mit dem Zustand der Plasmabausteine.

Im folgenden wird der Aminosäure- und Peptidspiegel in verschiedenen Phasen der Frosthärtung verfolgt und mit dem Resistenzverlauf verglichen. Weiterhin werden Modellversuche beschrieben, die zur Klärung der Frage beitragen sollen, ob Aminosäuren und Peptide für die Ausbildung der Frostresistenz von Bedeutung sind.

Material und Methode

Die Untersuchungen wurden im Winter 1955/56 an Winterweizen durchgeführt. Bezüglich der Versuchsanordnung und anderer Einzelheiten wie Extraktionsverfahren, Zellwandsubstanz- und Frostresistenzbestimmung sowie Frostschutzversuche sei auf HEBER (1958b) verwiesen. Der Aminosäure- und Peptidspiegel von frostharten Pflanzen eines Feld- und eines Kaltgewächshausversuches wurde mit dem von frostempfindlichen Pflanzen, die im warmen Gewächshaus gehalten wurden, verglichen. Dabei entsprachen sich empfindliche und resistent werdende

Gewächshauspflanzen wenigstens zu Versuchsbeginn in ihrem physiologischen Zustand.

Die Aminosäuren wurden aus den Blättern mit 65%igem Alkohol extrahiert und der Extrakt im Vakuum eingeengt. Es resultierte eine Stammlösung, die auf Papier aufgetragen und chromatographiert wurde. Folgende Aminosäuren konnten wir durch spezifische Reaktionen und durch Superposition von Testaminosäuren am Chromatogramm identifizieren: Asparaginsäure und ihr Amid, Glutaminsäure und ihr Amid, Serin, Alanin, β-Alanin, Valin, γ-Aminobuttersäure, Prolin, Glycin, Leucin (und/oder Isoleucin), Phenylalanin und Threonin. Zur quantitativen Bestimmung wurde Stammlösung in abgemessener Menge neben Standardaminosäuren auf Papierbogen von Schleicher & Schüll Nr 2043b Mgl aufgetragen und absteigend mit Butanol-Eisessig-Wasser 4:1:5 20 Std bei 25° C chromatographiert. An diesen Chromatogrammen wurden nach Reaktion mit Ninhydrin γ-Aminobuttersäure, β-Alanin und Valin bestimmt. In analoger Weise wurden andere Chromatogramme mit Phenol-Wasser nach ROLAND und GROSS (1954) absteigend entwickelt, bis die Lösungsmittelfront den unteren Rand des Bogens erreichte. An diesen Chromatogrammen konnten nach Farbentwicklung mit Ninhydrin Asparaginsäure, Asparagin, Glutaminsäure, Serin, Threonin und Alanin bestimmt werden. Leucin, Isoleucin und Phenylalanin wurden dabei nicht getrennt, sondern in summa ermittelt, wobei Leucin als Standard diente. Der geringe Fehler, der daraus resultiert, daß neben Leucin noch Phenylalanin, das mit Ninhydrin eine geringfügig andere Farbintensität ergibt, zugegen war, und so ein Vergleich gegen bekannte Mengen Leucin nicht ganz gerechtfertigt ist, wurde vernachlässigt. An einem dritten Chromatogrammansatz (Phenol/Wasser als Entwickler) schließlich wurde Prolin bestimmt, wobei Isatin als Farbentwickler diente (ACHER, FROMAGEOT und JUSTISZ 1950). Andere Aminosäuren waren in zu geringer Menge vertreten, um bestimmt werden zu können. Die Genauigkeit der Bestimmungen war bei Asparagin wegen der schwächeren Anfärbbarkeit mit Ninhydrin und bei Prolin wegen nicht vermeidbarer Untergrundfärbung des Papiers weniger groß als bei den übrigen Aminosäuren. Es muß hier ein Fehler von $\pm$10—20% angenommen werden, während bei den übrigen Aminosäuren der Fehler unter 3% betragen dürfte (betreffs Einzelheiten der Methodik vgl. HEBER 1958a).

Da es fraglich erschien, ob nicht hochmolekulare Peptide durch 65%igen Alkohol, der als Extraktionsmedium für die Aminosäuren diente, gefällt und so der nachfolgenden Bestimmung in der Lösung entzogen werden, gingen wir zur Extraktion der Peptide anders als bei den Aminosäuren vor. Wir homogenisierten Blätter in Wasser und fällten nach 5 min die Blatteiweiße durch Erhitzen im Wasserbad auf 90° C. Der p_H-Wert der resultierenden Lösung betrug zwischen 5,5 und 6,0. Anschließend wurde wie bei der Alkoholextraktion eingeengt. Da dieses Verfahren zwar eine sichere Extraktion wasserlöslicher Peptide gewährleistet, fermentative Vorgänge während des Homogenisierens aber nicht ausschließt, bestimmten wir auch in diesem Extrakt auf die schon beschriebene Weise die Aminosäuren. Fermentvorgänge während der Aufarbeitung müßten ja Menge und Zusammensetzung der Aminosäuren gegenüber dem Alkoholextrakt ändern.

Es ist außerordentlich schwierig, Peptide direkt zu bestimmen, weil sich die Abtrennung von den Aminosäuren schwer bewerkstelligen läßt. Deshalb wählten wir zur Bestimmung eine indirekte Methode. Der Stickstoffgehalt der Stammlösung wurde nach KJELDAHL ermittelt. Durch Multiplikation der N-Werte mit dem Faktor 7 ergab sich der Gehalt an Peptiden und an Aminosäuren sowie an anderen N-haltigen wasserlöslichen Stoffen, die nicht durch Hitze bei schwach saurer Reaktion gefällt werden konnten. Letztere dürften mengenmäßig gegenüber den beiden erstgenannten Stoffklassen völlig zurücktreten und wurden daher

vernachlässigt. Die Plasmaeiweiße waren ja bis auf einen kochstabilen Körper durch die bei der Aufarbeitung vorgenommene Erhitzung entfernt worden. Das kochstabile Protein wurde als „Peptid" mitbestimmt. Es war durch Trichloressigsäure fällbar, und seine Menge betrug zwischen 0,5 und 1,0% der Trockensubstanz der Blätter.

Der Faktor 7 wurde anstelle des bei Eiweißbestimmungen nach KJELDAHL üblichen Faktors 6,25 gewählt, da einmal Peptide wegen ihrer größeren Anzahl an Endgruppen einen geringeren N-Gehalt als Eiweiße besitzen, andererseits in der Stammlösung ein wesentlicher Prozentsatz des Stickstoffgehaltes auf die Aminosäuren entfällt, bei denen im Durchschnitt ein Faktor von etwa 7,3 gerechtfertigt wäre.

Vom so ermittelten Gesamtgehalt an Aminosäuren und Peptiden (und anderen N-haltigen Stoffen) wurde die Summe der chromatographisch bestimmten Aminosäuren abgezogen. Die resultierenden Werte dürfen mit guter Annäherung als freier Peptidgehalt der Blätter betrachtet werden.

Die Summe der nach den beiden Analysenwegen (Alkoholextraktion und Kochextraktion) chromatographisch bestimmten Aminosäuren stimmt gut überein, doch ergaben sich hinsichtlich der Zusammensetzung aus den einzelnen Aminosäuren wesentliche Abweichungen (was für die Peptidbestimmung unwichtig ist). Der Gehalt sowohl an Glutaminsäure als auch in geringerem Maße an Asparaginsäure war im Alkoholextrakt wesentlich höher als im Kochextrakt. Dafür waren im letzteren die Gehalte an γ-Aminobuttersäure und (weniger ausgeprägt) an β-Alanin, aber auch an Alanin erhöht. Bezüglich der Glutaminsäure ist bekannt, daß sie durch eine Glutaminsäuredecarboxylase in γ-Aminobuttersäure überführt werden kann (LOOMIS 1958). Trotz der kurzen Homogenisierungszeit vor dem Inaktivieren des Enzyms durch Kochen konnte also ein großer Teil der vorhandenen Glutaminsäure decarboxyliert werden. Es muß ferner aus dem vermehrten Auftreten von β-Alanin und Alanin geschlossen werden, daß die Bildung dieser Verbindungen nach einem ähnlichen Mechanismus aus Asparaginsäure vor sich gehen kann (vgl. VIRTANEN u. Mitarb. 1938), wobei offensichtlich sowohl die α- als auch die β-Carboxylgruppe angegriffen wird.

Ergebnisse

1. Der Aminosäure- und Peptidspiegel in der Pflanze. In der Literatur finden sich widersprechende Berichte über die Korrelation zwischen stickstoffhaltigen Körpern, die nicht zu den Proteinen gehören, aber auch nicht näher identifiziert werden, und der Frostresistenz (Sammelliteratur bei LEVITT 1956). Aus diesem Grunde schien es erwünscht, den hier herrschenden Verhältnissen nachzugehen. Dabei mußte versucht werden, den „non-protein"-Stickstoff weiter zu fraktionieren und vor allen Dingen in Aminosäure-N und Peptid-N aufzutrennen. Eine solche Auftrennung wurde auf chromatographischem Wege erreicht.

Die Abb. 1a und 1b zeigen den Aminosäurespiegel der Weizensorte Criewener 192 im Feldversuch 1955/56, dessen Pflanzen bei Beginn der Probeentnahmen von Blättern frostresistent waren und etwa Ende Februar ihre Resistenz zu verlieren begannen (vgl. Abb. 4). Die Abb. 2a und 2b stellen dasselbe für den Härtungsversuch (Gewächshausversuch „kalt") dar, die Abb. 3a und 3b für den Kontrollversuch (Gewächshaus-

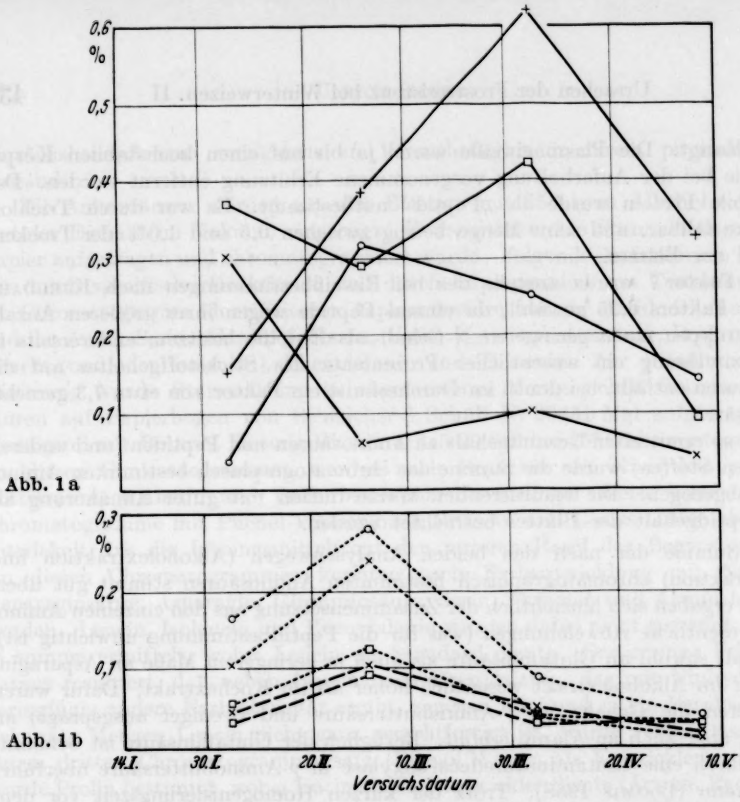


Abb. 1. Der Aminosäurespiegel der Sorte Criewener 192 im Feldversuch, bezogen auf die Trockensubstanz der Blätter. (Der besseren Übersichtlichkeit halber wurden die Kurven der einzelnen Aminosäuren auf die Abb. 1a und 1b verteilt.) +——— Glutaminsäure; o——— Asparaginsäure; ×——— γ-Aminobuttersäure; □——— Alanin; □— — — Lysin; o— — — β-Alanin; ×— — — Valin; □------ Threonin; o------ Serin; ×------ Phenylalanin + Isoleucin + Leucin

Abb. 2. Der Aminosäurespiegel der Sorte Criewener 192 im Härtungsversuch (Gewächshausversuch „kalt"), bezogen auf die Trockensubstanz der Blätter (der besseren Übersichtlichkeit halber auf die Abb. 2a u. 2b verteilt). Zeichen wie in Abb. 1

Abb. 3. Der Aminosäurespiegel der Sorte Criewener 192 im Kontrollversuch (Gewächshausversuch „warm"), bezogen auf die Trockensubstanz der Blätter (der besseren Übersichtlichkeit halber auf die Abb. 3a u. 3b verteilt). Zeichen wie in Abb. 1

versuch „warm"). Die beiden letzten Versuche umfassen Pflanzenmaterial in vergleichbarem Stadium, wobei die Pflanzen des Kontrollversuches keine Frostresistenz besitzen, während im Härtungsversuch erst Resistenzerwerb und gegen Ende des Versuches wieder Resistenzverlust stattfindet. In Abb. 4 ist der Resistenzverlauf während der drei Versuche dargestellt (vgl. Heber 1958b). Für die Sorten Carsten V und Hauter's II wurden etwa gleiche Verhältnisse für die einzelnen Aminosäuren bei den drei Versuchsansätzen erhalten. Auf die Darstellung der Ergebnisse wurde daher verzichtet. In den graphischen Darstellungen sind folgende Aminosäuren erfaßt: Glutaminsäure, Asparaginsäure, γ-Aminobuttersäure, Lysin, Alanin, β-Alanin, Valin, Threonin, Serin und Phenylalanin + Leucin + Isoleucin. Der Gehalt an den einzelnen Aminosäuren ist bei Bezugnahme auf die Trockensubstanz

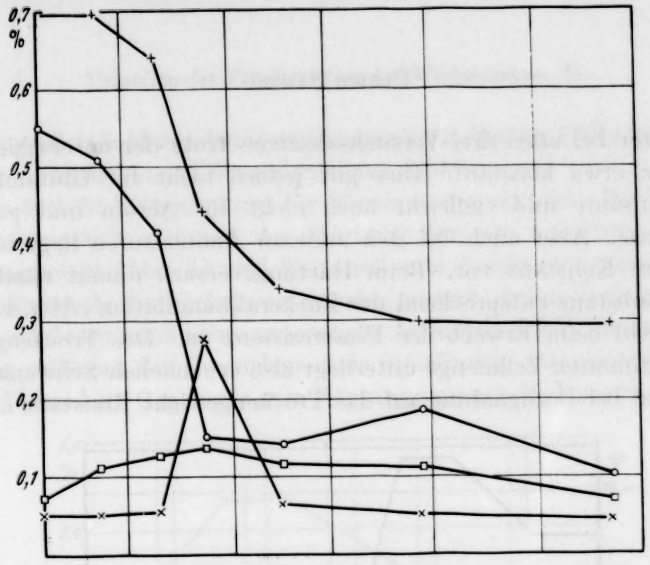


Abb. 2a

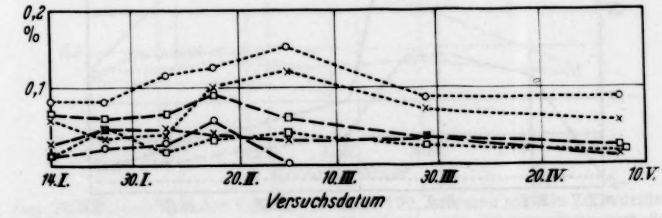


Abb. 2b

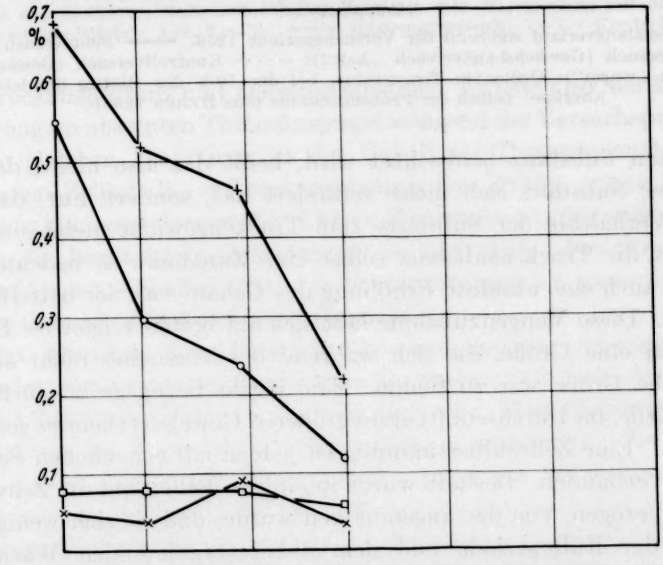


Abb. 3a

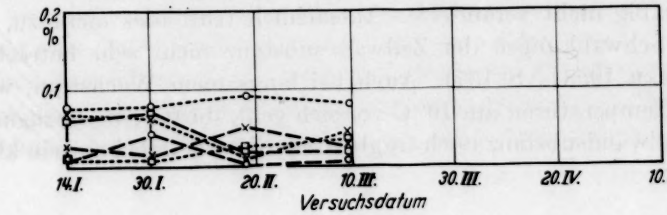


Abb. 3b

der Blätter bei allen drei Versuchsansätzen trotz der unterschiedlichen Resistenz etwa konstant. Dies gilt jedoch nicht für Glutaminsäure, Asparaginsäure und vielleicht auch nicht für Alanin und γ-Aminobuttersäure. Aber auch bei den anderen Aminosäuren liegt nur eine scheinbare Konstanz vor. Beim Härtungsversuch nimmt nämlich die Trockensubstanz entsprechend der Zuckerakkumulation (Abb. 4 in HEBER 1958b) beim Erwerb der Frostresistenz zu. Das Trockengewicht einer bestimmten Zellmenge unterliegt also erheblichen Schwankungen. Wenn nun bei Bezugnahme auf das Trockengewicht Konstanz an einer

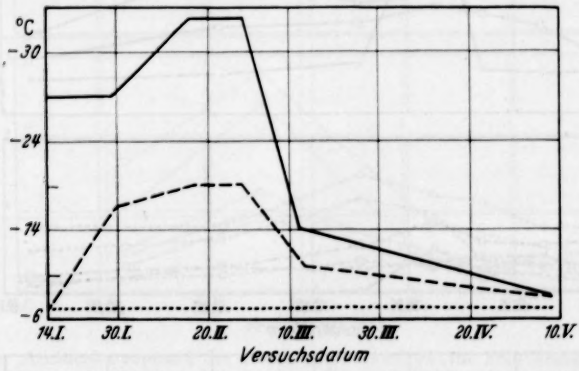


Abb. 4. Resistenzverlauf während der Versuchsperiode 1956. —— Feldversuch; – – – Härtungsversuch (Gewächshausversuch „kalt"); ····· Kontrollversuch (Gewächshausversuch „warm"); Ordinate: Temperatur, bei der 50 % der Blätter überlebten; Abszisse: Zeiten der Probeentnahme (aus HEBER 1958b)

bestimmten Substanz beobachtet wird, heißt das also nicht, daß die Menge der Substanz sich nicht verändert hat, sondern nur, daß das relative Verhältnis der Substanz zum Trockengewicht gleichgeblieben ist. Zeigt die Trockensubstanz selbst eine Zunahme, so bedeutet das demnach auch eine absolute Erhöhung des Gehaltes an der betreffenden Substanz. Diese Mengenzunahme läßt sich am besten zeigen bei Bezugnahme auf eine Größe, die sich während des Versuches nicht ändert. Eine solche Größe war zu finden: Eine ideale Bezugsgröße dürfte die einzelne Zelle, im Durchschnitt eines größeren Gewebeverbandes gesehen, darstellen. Eine Zellzahlbestimmung ist jedoch mit erheblichen Schwierigkeiten verbunden. Deshalb wurde in einigen Fällen auf die Zellwandsubstanz bezogen, von der angenommen wurde, daß sie sich wenigstens während der Kälteperiode und dem dabei stagnierenden Wachstum mengenmäßig nicht veränderte. Tatsächlich trifft dies nicht zu, doch sind die Schwankungen der Zellwandsubstanz nicht sehr beträchtlich (vgl. HEBER 1958b, S. 157). Auch bei langsamem Wachstum, wie es etwa bei Temperaturen um 10° C vor sich geht, dürfte eine Bezugnahme auf die Zellwandsubstanz noch tragbar sein, da sich dabei nur ein kleiner

Teil der großen Zahl zur Analyse gelangender Zellen im Differenzierungsstadium befindet und Zellwandsubstanz bildet.

Abb. 5 stellt beispielsweise für Threonin die effektive Zunahme am Aminosäuregehalt während der Härtung dar, die bei Bezug auf das Trockengewicht (Abb. 2b und 3b) nicht zum Ausdruck kommt. Da im Kontrollversuch (Gewächshausversuch „warm") keine Zuckerakkumulation und damit auch keine wesentliche Änderung des Trockensubstanzgehaltes während der Versuchsperiode stattfindet, entsprechen sich für diesen Versuch im Gegensatz zum Härtungsversuch die Kurven bei Bezug

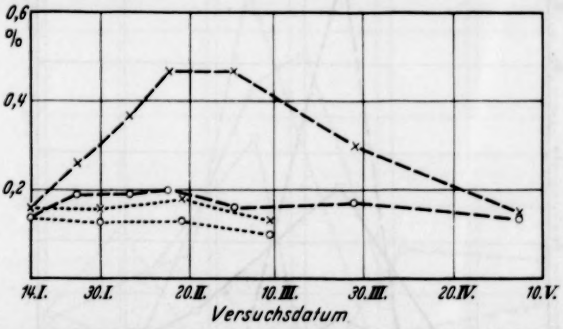


Abb. 5. Der Threoninspiegel der Sorte Criewener 192, bezogen auf die Zellwandsubstanz (×) und auf den trockenen Zellinhalt (o) (im Vergleich zur Bezugnahme auf das Trockengewicht der Blätter: Abb. 2 u. 3). ——— Härtungsversuch; ------ Kontrollversuch

auf Trockensubstanz und Zellwandsubstanz. Es tritt also hier keine Veränderung im absoluten Threoninspiegel während der Versuchsperiode ein.

Im gleichen Diagramm ist der Gehalt an Threonin auch auf den trockenen Zellinhalt (= Trockensubstanz der Blätter minus Zellwandsubstanz) bezogen dargestellt. Dessen Zusammensetzung wird vor allem durch die beobachtete Zuckerzunahme verändert. Aus dem Kurvenverlauf ist zu schließen, daß der Threoninspiegel im wesentlichen den Schwankungen des Zuckerspiegels folgt.

Das Absinken des Glutaminsäure- und Asparaginsäurespiegels im gesamten Gewächshausversuch wird so erklärt, daß diese Aminosäuren als Schlüsselsubstanzen der Aminosäure- und Eiweißbildung mit dem Stagnieren des Wachstums mengenmäßig zurücktreten. Im Gewächshausversuch „kalt" (Härtungsversuch) hörte das Wachstum mit dem Einsetzen der Kälteperiode auf, während es sich beim Kontrollversuch etwa vom 5-Blattstadium an stark verlangsamte, da der für Bestockung und Austreiben erforderliche Kältereiz fehlte. Auch das Ansteigen des Gehaltes an diesen Aminosäuren im April im „Feldversuch" ordnet sich in diese Vorstellung ein, da nach dem Ende der Frostperiode und der Erholungszeit hier starkes Wachstum zu verzeichnen war. Eine direkte Beziehung zur Frostresistenz (Abb. 4) oder zum Temperaturverlauf

(Abb. 5 in HEBER 1958b) ist bei keiner der in den Abb. 1, 2 und 3 berücksichtigten Aminosäuren festzustellen.

Dies dürfte auch trotz der einschränkenden Korrektur gelten, die für den Gewächshausversuch (Abb. 2 und 3) in der Abb. 5 vorgenommen wurde.

Die effektive Zunahme der Aminosäuren kann als Begleiterscheinung der Zuckeranhäufung im Härtungsversuch während der Frosthärtung gedeutet werden, da in der Zelle durch die einseitige Zuckerakkumu-

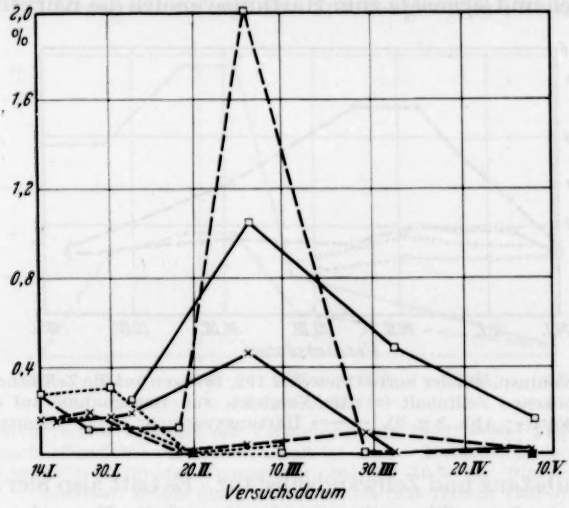


Abb. 6. Der Prolin- und Asparaginspiegel bei Criewener 192, bezogen auf das Trockengewicht der Blätter. —— Feldversuch; – – – Härtungsversuch; ····· Kontrollversuch; × Asparagin; □ Prolin

lation auch die Bildung anderer Stoffe infolge der Störung der Reaktionsgleichgewichte gefördert werden dürfte. Auch tritt die Zunahme an Aminosäuren im Feldversuch nicht parallel mit dem Resistenzverlauf auf.

Völlig abweichend vom Konzentrationsverlauf der anderen Aminosäuren verhält sich der Asparagin- und Prolinspiegel (Abb. 6 für die Sorte Criewener 192, Abb. 7 für Hauter's II). Hier ist ein sprungartiger Anstieg nach Aufhören der großen Kälteperiode zu beobachten. Mit beginnendem Wachstum fällt dann der Gehalt etwa wieder auf die alte Höhe. Das dürfte so zu erklären sein, daß nach Aufhören der Kälteperiode ein intensiver Eiweißabbau einsetzte, der wahrscheinlich nur auf Kosten denaturierter Eiweißbestandteile gehen konnte. Es ist hier zu bemerken, daß die im Februar 1956 anhaltende Kälteperiode starke Frostschäden sowohl beim Feldversuch als auch beim Härtungsversuch verursachte. Bei der Ernte der Blätter wurden zwar nur überlebende Pflanzenteile analysiert, doch ist in Anbetracht der gesamten Schad-

wirkung des Frostes mit Sicherheit anzunehmen, daß auch die überlebenden Pflanzenteile vom Frost nicht unbeeinflußt gelassen worden waren.

Wenn das Auftreten von Prolin und Asparagin auf Autolysevorgänge in frostgeschädigten *abgestorbenen* Zellen zurückgehen würde, sollte auch der Gehalt an den anderen Aminosäuren in ähnlicher Weise erhöht sein (s. a. KOVCHOFF 1907). Da dies nicht der Fall ist, muß angenommen werden, daß das stark vermehrte Auftreten von Prolin und (wenigstens

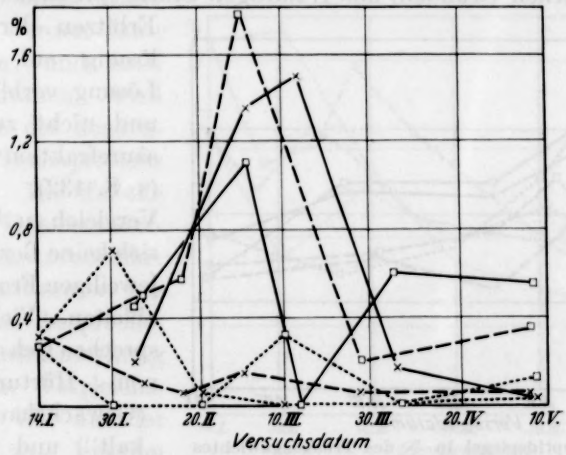
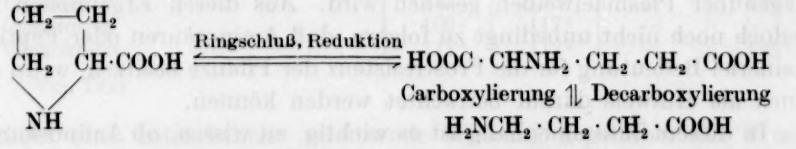


Abb. 7. Der Prolin- und Asparaginspiegel bei Hauter's II, bezogen auf das Trockengewicht der Blätter. Zeichen wie in Abb. 6

im Feldversuch) Asparagin einen Ausdruck für einen kontrollierten Eiweißabbau in *lebenden* Zellen darstellt. Ist diese Annahme richtig, so zeigt der obige Befund die Befähigung der Pflanzen auf, Frostschäden in beschränktem Umfange zu reparieren.

Für die bei einem Eiweißabbau notwendigerweise noch anfallenden Aminosäuren kann sozusagen ein enzymatischer „Abfluß" vorhanden sein: Sie werden im Stoffwechselgetriebe der Pflanze sofort beim Erscheinen weiter verarbeitet, so daß diese Anteile bei der Analyse nicht gefaßt werden können. Weshalb sich gerade Asparagin und Prolin anhäufen, ist schwer zu sagen. Asparagin fungiert vermutlich als Speicherprodukt für Stickstoff, während Prolin als (vorläufiges) Endprodukt bei der Glutaminsäure- und γ-Aminobuttersäureumwandlung in Frage kommen könnte (LOOMIS 1958):



Interessanterweise tritt Prolin auch beim Proteinabbau infolge Welkens in erstaunlich großer Menge auf (KEMBLE und MACPHERSON 1954).

Aminosäuren scheinen also nach den obigen Befunden an der eigentlichen Frosthärtung nicht aktiv beteiligt zu sein.

Für Peptide ergeben sich gewisse Möglichkeiten, als Schutzkolloide bei der Dehydratation des Plasmas durch Frost zu fungieren. Auf Grund ihrer besonderen Struktur können nämlich Peptide wesentlich hydrophiler sein als ihre Bausteine, die Aminosäuren.

Abb. 8 gibt den Peptidspiegel im Versuchsjahr 1956 für die beiden Sorten Criewener 192 und Hauter's II wieder. Als Peptide sind hier (aus analytischen Gründen) alle N-haltigen Stoffe verstanden, die nach Erhitzen der Extraktlösung auf 90° C in Lösung verblieben sind und nicht zur Aminosäurefraktion gehören (s. S. 432). Aus dem Vergleich zu Abb. 4 läßt sich keine Beziehung zur jeweiligen Frostresistenz ableiten. Vielmehr entsprechen sich die Kurven vom Härtungsversuch (Gewächshausversuch „kalt") und vom Kontrollversuch (Gewächshausversuch „warm") recht weitgehend, wenn auch bei Beginn der Härtung bei Hauter's II ein gegenüber der Kontrolle stark abfallender Peptidgehalt zu beobachten ist. An diesem Bilde ändert sich auch nichts, wenn man anstatt einer Bezugnahme auf die Trockensubstanz der Blätter auf die Zellwandsubstanz als konstante Größe bezieht (Abb. 9).

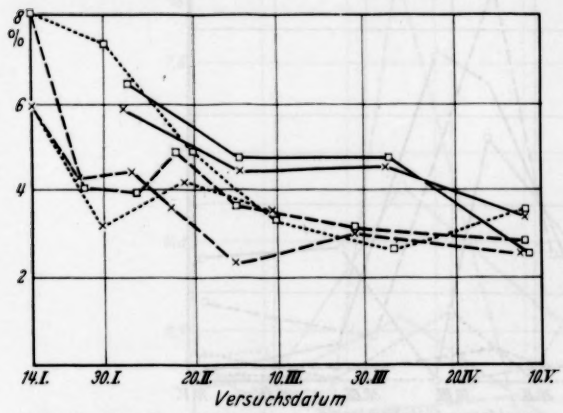


Abb. 8. Der Peptidspiegel in % des Trockengewichtes der Blätter. ——— Feldversuch; — — — Härtungsversuch; ------ Kontrollversuch; × Criewener 192; □ Hauter's II

2. Modellversuche. Aus den Ergebnissen der Aminosäure- und Peptidspiegeluntersuchung an der Pflanze bei verschiedener Höhe der Frostresistenz ließen sich keine erkennbaren oder gar markanten Beziehungen zwischen dem Gehalt an Aminosäuren oder Peptiden und der Frostresistenz herleiten. Lediglich bestimmte Aminosäuren zeigten ein Verhalten, das in Zusammenhang mit der Schadwirkung des Frostes gegenüber Plasmaeiweißen gesehen wird. Aus diesen Ergebnissen ist jedoch noch nicht unbedingt zu folgern, daß Aminosäuren oder Peptide keinerlei Bedeutung für die Frostresistenz der Pflanze besitzen, wenn sie auch als Hinweis darauf betrachtet werden können.

In diesem Zusammenhang ist es wichtig, zu wissen, ob Aminosäuren und Peptide in vitro in der Lage sind, eine Frostfällung von empfindlichen Plasmaproteinen zu verhindern. Nun ist es schwierig, geeignete

Peptide für einen solchen Frostschutzversuch zu finden. Die Peptide der Weizenpflanze, die aus naheliegenden Gründen vor allem interessieren, lassen sich vorläufig nicht rein genug und nicht in genügender Menge darstellen. Wir prüften deshalb Pepton als Beispiel für ein Peptidgemisch und weiter noch verschiedene Aminosäuren auf ihre Frostschutzwirkung gegenüber empfindlichen Plasmaproteinen. Die Prüfung wird vorgenommen, indem der zu untersuchende Stoff in verschiedenen Konzentrationen zu Lösungen empfindlicher Plasmaeiweiße zugegeben wird. Diese Lösungen werden dann eingefroren, und nach dem Auftauen wird die Menge des denaturierten Plasmaproteins bestimmt. Die Tabelle zeigt das Ergebnis derartiger Schutzversuche. Glucose mit seiner bereits früher besprochenen Frostschutzwirkung diente als Vergleichssubstanz. Wie aus der Tabelle zu ersehen ist, besitzt Pepton im Gegensatz zu den Aminosäuren eine beträchtliche schützende Wirkung gegenüber der Frostdenaturierung der Proteine. Sie reicht jedoch nicht an die der Glucose heran. Die hohen Werte für frostdenaturiertes Protein bei Zusatz von

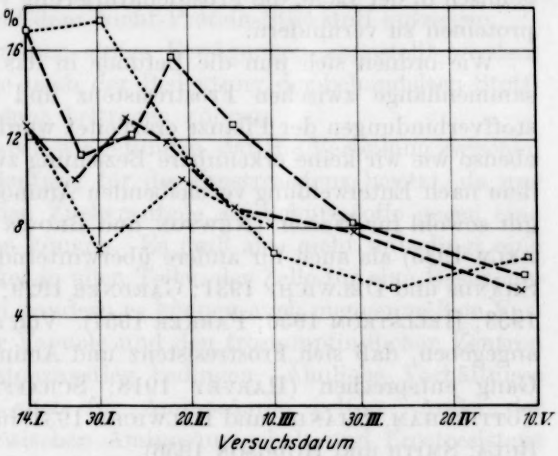


Abb. 9. Der Peptidspiegel bei Bezugnahme auf die Zellwandsubstanz. — — — Härtungsversuch; ------ Kontrollversuch; × Criewener 192; □ Hauter's II

Tabelle. *Die Schutzwirkung von Pepton und verschiedenen Aminosäuren auf frostempfindliches Protein beim Einfrieren auf —20° C im Vergleich zur Wirkung von Glucose. Proteingehalt der Lösung 2,6%*

	Konzentration an zugesetzter, auf Frostschutzwirkung zu prüfender Substanz			
	3,7 %	7,5 %	10,9 %	15,0 %
Denaturiertes Protein in Prozent des frostempfindlichen Proteins bei Zusatz von				
Glucose	94	44,5	28	14
Pepton	93	46	43	41
Glutamat	113[1]	120[1]	—	140[1]
Cystein-Na	109[1]	117[1]	—	—
Glykokollat	111[1]	117[1]	—	128[1]

[1] Vgl. Text.

Aminosäuren sind so zu erklären, daß das Protein bei der Koagulation nicht unbeträchtliche Mengen an Aminosäuren mitreißt, die dann bei der Wägung mit erfaßt werden.

Besprechung der Ergebnisse

Im Vorstehenden ließ sich zeigen, daß weder bei Aminosäuren noch bei Peptiden eine eindeutig positive mengenmäßige Relation zur Frostresistenz von Weizenpflanzen besteht. Jedoch war in vitro ein Peptidgemisch in der Lage, die Frostdenaturierung von empfindlichen Plasmaproteinen zu verhindern.

Wie ordnen sich nun die Befunde in das ein, was bisher über Zusammenhänge zwischen Frostresistenz und niedermolekularen Stickstoffverbindungen der Pflanze erarbeitet wurde? Einige Autoren haben ebenso wie wir keine erkennbare Beziehung zwischen der Resistenz und dem nach Enteiweißung verbleibenden Aminostickstoff gefunden[1]. Dies gilt sowohl für Weizen (Newton und Brown 1926, Mudra 1933, Wilhelm 1935) als auch für andere überwinternde Pflanzen (Tottingham, Shands und Delwiche 1931; Gardner 1929; Siminovitch und Briggs 1953; Hellström 1956; Parker 1957). Von anderer Seite wird jedoch angegeben, daß sich Frostresistenz und Aminostickstoffgehalt in ihrem Gang entsprechen (Harvey 1918; Schaffnit und Lüdtke 1931; Tottingham, Shands und Delwiche 1931 für Weizen; Dexter 1935; Bula, Smith und Hodgson 1956).

Wie sind nun diese widersprechenden Befunde zu erklären? Aus einer Anzahl von Untersuchungen wissen wir, daß bei Wassermangel ein Teil der Blattproteine hydrolysiert und damit die Menge der niedermolekularen Stickstoffverbindungen erhöht wird (u. a. Mothes 1928, 1931; Petri und Wood 1938; Petrie 1943; Axelrod und Jagendorf 1951). Es ist nun allgemein bekannt, daß nur ein Teil der Pflanzen, die den Unbilden des Winters erliegen, durch direkte Frosteinwirkungen abstirbt. Ein weiterer Teil geht an Dürreschäden zugrunde. Daraus geht aber hervor, daß dem Wassermangel im Winter Bedeutung zukommt, sei es, daß Niederschläge fehlen, sei es, daß die Wasserzufuhr zu den Blättern infolge Bodenfrostes unterbunden ist. In unserem Zusammenhang scheint es erlaubt, weiter zu schließen, daß die bisweilen beobachtete positive Relation zwischen niedermolekularen Stickstoffverbindungen und der Frostresistenz nicht auf ursächliche Beziehungen hindeutet, sondern ganz einfach als Folge eines gelegentlichen Wassermangels beim Resistenzerwerb zu erklären sein dürfte.

[1] Es ist hierbei zu beachten, daß bei den früheren Arbeiten eine Fraktionierung des Nicht-Protein-Stickstoffes in Aminosäure- und Peptidstickstoff unterblieb, so daß eine große Anzahl verschiedener Verbindungen zusammen erfaßt wurde.

Weiter kommt noch hinzu, daß nicht nur Dürreeffekte einen Anstieg löslicher Stickstoffverbindungen begünstigen, sondern auch Kälteschocks ähnliche Wirkungen haben können, ohne daß eine direkte Beziehung zur Frostresistenz vorliegen kann. Dies zeigt z. B. der Befund, daß die gar nicht zum Resistenzerwerb befähigte Kartoffel bei niedrigen Temperaturen den Gehalt an löslichen Stickstoffverbindungen emporschnellen läßt (MÜLLER-THURGAU 1882, LEVITT 1954).

Unter diesem Aspekt behalten letztlich nur diejenigen Befunde ihre volle Bedeutung bezüglich der Frostresistenz, die keinen Zusammenhang zwischen der Resistenz und dem Nicht-Protein-Stickstoff aufzeigen.

Es sollen nun im einzelnen einige Erwägungen angestellt werden, die zur Klärung der Frage nach der Bedeutung der behandelten Stoffklassen für die Frostresistenz beitragen können.

Im Falle der Zucker haben wir gefunden, daß die Verteilung zwischen Plasma und Vacuole Bedeutung für die Frostresistenz besitzt, da nur die im Plasma vorliegenden Zuckeranteile als Schutzstoffe gegen eine Frostdenaturierung wirken können. Es muß also nicht unbedingt eine Mengenzunahme der Zucker in allen Teilen der Zelle für eine Resistenzerhöhung erforderlich sein, sondern es können auch mengenmäßige Verschiebungen zwischen der Vacuole und den frostempfindlichen Zentren des Plasmas einen Resistenzanstieg bedingen. Ähnliche Verhältnisse könnten möglicherweise auch für Aminosäuren gelten. Außer der mangelnden Beziehung zwischen Aminosäuregehalt und Frostresistenz sprechen jedoch auch Quantitätsgründe gegen eine Beteiligung von Aminosäuren an den Resistenzerscheinungen. Es muß ja ein erheblicher Teil der Plasmaproteine, nämlich das frostempfindliche Eiweiß, d. h. etwa 30—40% des gesamten Zellinhaltes, gegen die Frostwirkung geschützt werden. Daß dazu nicht unbeträchtliche und den Gesamtgehalt an Aminosäuren übersteigende Schutzstoffmengen erforderlich sind, zeigen die Untersuchungen über die Bedeutung der Zucker für die Frostresistenz (ULLRICH und HEBER 1958). Überdies zeigen die Aminosäuren im Frostschutzversuch überhaupt keine die Denaturierung verhindernden Eigenschaften.

Der Frostschutzversuch dient uns als Kriterium dafür, ob eine Substanz die Denaturierung von Plasmaeiweißen durch Frosteinwirkung verhüten und damit die Frostresistenz erhöhen kann. Es muß allerdings hier darauf hingewiesen werden, daß von anderer Seite die Frostschadenwirkung ganz anders als von uns gesehen wird (LEVITT 1956; ILJIN 1933, 1934, 1934a; MAXIMOV 1929). Die Resistenz soll darauf beruhen, daß die Pflanzenzelle irgendwie die Fähigkeit erwirbt, mechanische Zerreißungen im Plasma infolge von Spannungen zu vermeiden, die beim Gefrieren eintreten. Eine ganze Reihe von Veränderungen in der Pflanzenzelle, vor allem aber ein nicht näher identifizierter plasmatischer Härtungsfaktor und die Erhöhung der Zellsaftkonzentration (LEVITT 1957) sollen beim Resistenzerwerb auf dieses Endergebnis hinarbeiten. Leider wird jedoch die mechanische Theorie der Frostresistenz in keiner Weise den Beobachtungen gerecht, die wir beim Gefrieren

empfindlicher Plasmaeiweißlösungen machten. Hier tritt nämlich infolge des Wasserentzuges beim Gefrieren Denaturierung ein. Man könnte auch meinen, daß diese Denaturierung durch den beim Kristallwachstum des Eises einsetzenden Druck und somit mechanisch bedingt sei. Gegen diese Annahme spricht aber unser Befund, daß ein auf die Lösung des empfindlichen Proteins ausgeübter Druck von mehr als 100 atm zu keiner Denaturierung führt. Dies alles bringt uns zu der Ansicht, daß der Gefrierversuch ein brauchbares, wenn auch stark vergröbertes Modell zur Prüfung irgendwelcher Substanzen auf ihre Schutzwirkung darstellt. Haben solche Substanzen eine denaturierungsverhindernde Wirkung, so können sie die Frostresistenz erhöhen, falls sie in direktem Kontakt mit den zu schützenden Proteinen in der Zelle stehen.

Wenden wir dieselben Kriterien, die zur Prüfung einer Beteiligung von Aminosäuren an der Frostresistenzausbildung dienten, bei den Peptiden an. Es konnte hier keine mengenmäßige Korrelation zwischen Peptidgehalt und Frostresistenz aufgefunden werden. Vielmehr entsprach der Peptidgehalt in frostempfindlichen Kontrollpflanzen dem in resistenten Pflanzen recht weitgehend. Jedoch ist auch hier die Möglichkeit einer unterschiedlichen Verteilung der Peptide zu berücksichtigen. In mengenmäßiger Beziehung genügen die Peptide eher den Forderungen, die an einen Schutzstoff zu stellen sind, als die Aminosäuren, jedoch weniger gut als die Zucker, deren Menge den Peptidgehalt um erheblich mehr als das Dreifache übertreffen kann. Im Frostschutzversuch zeigte ein Peptidgemisch aus tierischen Proteinen eine nicht unbeträchtliche denaturierungsverhindernde Wirkung. Leider war es noch nicht möglich, Peptide der Weizenpflanze selbst zu prüfen. Verschiedene Peptide können aber je nach ihrem Bau ganz wesentliche Abweichungen in ihrem Verhalten zeigen, so daß aus der Schutzwirkung gewisser tierischer Peptide nicht unbedingt auf gleiche Verhältnisse bei den in Frage kommenden pflanzlichen Peptiden zu schließen ist. So konnten wir bei verschiedenen, selbst frostunempfindlichen Eiweißen, die ja als aus Peptiden aufgebaut betrachtet werden können, ganz unterschiedliches Frostschutzverhalten gegenüber den empfindlichen Proteinen feststellen, wie an anderer Stelle noch zu erörtern sein wird. Es ist also schwierig, aus den vorliegenden Ergebnissen sichere Schlüsse über eine Beteiligung von Peptiden am Resistenzerwerb zu ziehen. Soviel kann jedoch gesagt werden, daß die Peptide, sofern sie überhaupt Schutzfunktionen gegenüber empfindlichen Plasmaproteinen übernehmen, keine sehr wesentliche Rolle bei der Ausbildung der Frostresistenz spielen werden. Abgesehen von anderen Faktoren werden sie beispielsweise von den Zuckern sowohl an Höhe der Schutzwirkung als auch an Menge wesentlich übertroffen.

Zusammenfassung

1. Aminosäuren spielen beim Erwerb der Frostresistenz keine Rolle als Schutzstoffe gegen eine Denaturierung von Plasmaeiweißen durch Frost. Zwar findet mit der Anhäufung von Zuckern beim Resistenz-

erwerb eine gewisse Aminosäureakkumulation statt, doch steht sie offenbar nicht in Beziehung zur Resistenz, wie die vergleichende Betrachtung zweier Härtungsversuche und eines Kontrollversuches lehrt. Weiter sind Aminosäuren auch in vitro nicht in der Lage, Plasmaeiweiße gegen eine Frostdenaturierung zu schützen.

2. Auch der Gang des Peptidgehaltes zeigt keine Beziehung zum Resistenzverlauf. Jedoch kann ein Gemisch von Peptiden tierischen Ursprungs Plasmaeiweiße gegen die Einwirkung des Frostes schützen; die Peptide des Weizens selbst konnten in dieser Hinsicht allerdings noch nicht geprüft werden. Eine sichere Aussage darüber, ob Peptide an der Ausbildung der Frostresistenz beteiligt sind, ist also noch nicht möglich. Die Betrachtung der Stärke des Schutzeffektes sowie der verfügbaren Menge an Peptiden zeigt jedoch, daß — eine Schutzwirkung der betreffenden pflanzlichen Peptide vorausgesetzt — deren Bedeutung für die Frostresistenz nicht sehr groß sein kann und wesentlich hinter der der Zucker zurücksteht.

3. Nach starker Frosteinwirkung wurde ein sprungartiger Anstieg des Gehaltes an Asparagin und an Prolin beobachtet. Dies wird als Ausdruck eines kontrollierten Abbaues frostdenaturierter Eiweiße durch die nicht letal-geschädigte Zelle gedeutet.

Herrn Prof. Dr. H. Ullrich danke ich für sein Interesse und für vielfältige Förderung der Arbeit, der Deutschen Forschungsgemeinschaft für ihre intensive Unterstützung.

Literatur

Acher, R., C. Fromageot and M. Justisz: Chromatographic separation of amino acids and peptides. V. The amino acids of insulin with a note on the determination of prolin. Biochem. biophys. Acta **5**, 81—88 (1950). Zit. nach Kramer, Papierchromatographie 1954. — Axelrod, B., u. A. T. Jagendorf: The fate of phosphatase, invertase and peroxydase in autolysing leaves. Plant Physiol. **26**, 406—409 (1951). — Bula, R. J., D. Smith and H. J. Hodgson: Cold resistance in alfalfa at two diverse latitudes. Agronomy J. **48**, 153—156 (1956). — Dexter, S. T.: Growth, organic nitrogen fractions and buffer capacity in relation to hardiness of plants. Plant Physiol. **10**, 149—158 (1935). — Gardner, F. E.: Composition and growth initiation of dormant Bartlett pear shoots as influenced by temperature. Plant Physiol. **4**, 405—434 (1929). — Harvey, R. B.: Hardening process in plants and developments from frost injury. J. agric. Res. **15**, 83—111 (1918). — Heber, U.: Über eine neue Methode zur quantitativen Stoffbestimmung am Chromatogramm, insbesondere zur Analyse von Zucker- und Aminosäuregemischen. Z. anal. Chem. **161**, 409—421 (1958a). — Ursachen der Frostresistenz bei Winterweizen. I. Mitt.: Die Bedeutung der Zucker für die Frostresistenz. Planta **52**, 144—172 (1958b). — Hellström, N.: Investigations on oil turnips and oil rape. VI. Further investigations in chemical composition. Acta agric. scand. **6**, 17—44 (1956). — Iljin, W. S.: Über den Kältetod der Pflanzen und seine Ursachen. Protoplasma **20**, 105—124 (1933). — Die Veränderung des Turgors der Pflanzenzellen als Ursache ihres Todes. Protoplasma **22**, 299—311 (1934). — The point of death of plants at low temperatures. Bull. Ass. russe pour les rech. sci. a Prague **1** (IV), 135—160 (1934a). — Kemble, A. R., and

H. T. MacPherson: Liberation of amino acids in perennial rye grass during wilting. Biochem. J. **58**, 46—49 (1954). — Kovchoff, J.: Enzymatische Eiweißzersetzung in erfrorenen Pflanzen. Ber. dtsch. bot. Ges. **25**, 473—479 (1907). — Levitt, J.: Investigations of the cytoplasmic particulates and proteins of potato tubers. III. Protein synthesis during the breakting of the rest period. Physiol. Plantarum (Cph.) **7**, 597—601 (1954). — The Hardiness of Plants. New York 1956. — Levitt, J.: The role of cell sap concentration in frost hardiness. Plant Physiol. **32**, 237—239 (1957). — Loomis, W. D.: The synthesis of amino acids in plants. In W. Ruhlands Handbuch der Pflanzenphysiologie, Bd. VIII, S. 224 bis 243. 1958. — Maximov, N. A.: Internal factors of frost and drought resistance in plants. Protoplasma **7**, 259—291 (1929). — Mothes, K.: Die Wirkung des Wassermangels auf den Eiweißumsatz in höheren Pflanzen. Ber. dtsch. bot. Ges. **46**, (59)—(67) (1928). — Mothes, K.: Zur Kenntnis des N-Stoffwechsels höherer Pflanzen. Planta (Berl.) **12**, 686—731 (1931). — Mudra, A.: Zur Physiologie der Kälteresistenz des Winterweizens. Planta (Berl.) **18**, 435—478 (1933). — Müller-Thurgau, H.: Über Zuckeranhäufung in Pflanzenteilen in Folge niederer Temperatur. Landwirtsch. Jb. **11**, 751—828 (1882). — Newton, R., and W. R. Brown: Seasonal changes in the composition of winter wheat in relation to frost resistance. J. agric. Sci. **16**, 522—538 (1926). — Parker, J.: Seasonal changes in some chemical and physical properties of living cells of Pinus ponderosa and their relation to freezing resistance. Protoplasma **48**, 147—163 (1957). — Petrie, A. H. K., and J. G. Wood: Studies on the nitrogen metabolism of plants. III. On the effect of water content on the relationship between protein and amino acids. Ann. Botany. N. S. **2**, 887—898 (1938). — Petrie, A. H. K.: Protein synthesis in plants. Biol. Rev. **18**, 105—118 (1943). — Roland, J., and A. M. Gross: Quantitative determination of amino acids using monodimensional paper chromatography. Analyt. Chem. **26**, 502—505 (1954). — Schaffnit, E., u. M. Lüdtke: Beiträge zur Kenntnis von Kältewirkungen auf die pflanzliche Zelle. Phytopath. Z. **4**, (4) 329—386 (1931). — Siminovitch, D., and D. R. Briggs: Studies on the chemistry of the living bark of the black locust tree in relation to its frost hardiness. IV. Effects of ringing on translocation, protein synthesis and the development of hardiness. Plant Physiol. **28**, 177—200 (1953). — Tottingham, W. E., R. G. Shands and E. D. Delwiche: Test of Chibnall's method of extraction for investigating winter hardiness of plants. Plant Physiol. **6**, 167 bis 176 (1931). — Ullrich, H., u. U. Heber: Über das Denaturieren pflanzlicher Eiweiße durch Ausfrieren und seine Verhinderung. Planta (Berl.) **51**, 399—413 (1958). — Virtanen, A. J., P. Rintala and T. Laine: Decarboxylation of aspartic and glutamic acids. Nature (Lond.) **142**, 674 (1938). — Wilhelm, A. F.: Untersuchungen über die Kälteresistenz winterfester Kulturpflanzen. Phytopath. Z. **8**, 111—156 (1935).

Dr. U. Heber,
Institut für landwirtschaftliche Botanik der Universität Bonn a. Rh.,
Meckenheimer Allee 176

Planta, Bd. 52, S. 447—466 (1958)

Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut und aus dem Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin

ÜBER PHOTOPERIODISMUS UND THERMOPERIODISMUS DER BLÜTENENTWICKLUNG IM ZUSAMMENHANG MIT DEM TOMATINGEHALT BEI EINIGEN LYCOPERSICON-ARTEN

Von

HENRICH SANDER

Mit 7 Textabbildungen

(Eingegangen am 3. Oktober 1958)

I. Einleitung

Zur Untersuchung des Steroidstoffwechsels höherer Pflanzen ist die Tomate *(Lycopersicon esculentum)* nebst ihren Halbkulturformen und den Wildarten besonders geeignet. Soweit bisher bekannt, kommt in ihr nur ein Steroid, das glykosidisch gebundene basische Tomatidin in größeren Mengen vor. Verwandte Steroide wurden nur in Spuren gefunden (SCHREIBER 1956). Dieses Hauptglykosid, Tomatin, ist leicht rein darzustellen und analytisch zu bestimmen (SCHULZ und SANDER 1957). Eine wichtige Voraussetzung bei stoffwechselphysiologischen Fragestellungen ist ferner die Notwendigkeit, die Versuchspflanzen unter extremen Bedingungen kultivieren zu können. Die Anzucht der Tomatenpflanze aus Samen, aus Stecklingen, ihre Kultur im Sommer und Winter, selbst die Kultur isolierter Organe bereiten keine Schwierigkeiten.

Häufig bedient man sich bei der Untersuchung des Umsatzes sekundärer Pflanzenstoffe des Vergleichs verwandter Arten, Varietäten oder Formen, bzw. künstlich erzeugter Mutanten. So schien es aussichtsreich nachzuprüfen, ob die bei rotfrüchtigen Tomaten gefundenen Verhältnisse in bezug auf den Tomatingehalt (SANDER 1956) auch bei grünfrüchtigen vorliegen. Seit KUHN, LÖW und GAUHE (1950) wissen wir, daß sich in den zur letztgenannten Gruppe, den *Eriopersici*, gehörenden Arten *L. peruvianum* und *L. hirsutum* ebenfalls Tomatin findet. In ihrer reproduktiven Phase jedoch weisen sie beträchtliche Unterschiede gegenüber den rotfrüchtigen *Eulycopersici* auf (z. B. Selbststerilität, Kurztagcharakter, Fruchtfarbe; LUCKWILL 1943). Gerade mit der reproduktiven Phase scheint aber nach den früheren Untersuchungen der Tomatingehalt in enger Beziehung zu stehen.

In dem zur Verfügung stehenden Sortiment fiel die im Freiland (Langtag = LT) nicht zur Blüte kommende *L. glandulosum* MULL. auf. Erste Analysen zeigten bereits beträchtliche Differenzen im Tomatingehalt zu KT-Pflanzen im Gewächshaus (SANDER 1957). Ziel dieser

Untersuchung war es, Anhaltspunkte für die Bedingungen der Blütenentwicklung und des mit ihr anscheinend zusammenhängenden Tomatinstoffwechsels zu finden.

II. Material und Methode

1. Samenmaterial. Über die Herkunft der untersuchten Pflanzen gibt Tabelle 1 Auskunft[1]. Zur Aussaat gelangten jeweils die Samen einer Frucht.

Tabelle 1. *Herkunft der untersuchten Pflanzen*

Art	Bezeichnung	Herkunft
L. peruvianum var. *typicum* MILL. . .	LA 153	51 L 481—2 × 481—6, Davis
L. peruvianum var. *dentatum* DUN. . .	LA 150	51 L 418—1 × 418—4, Davis
L. peruvianum var. *humifusum* MULL.	LA 16	53 L 59—5 × 59—2, Davis
L. chilense DUN.	LA 130	53 L 3—14 × 3—15, Davis
L. glandulosum MULL.	LA 119	53 L 51—5 × 51—4, Davis
L. hirsutum HUMB. et BONPL.		Mühlhausen

2. Isolierung und Identifizierung von Tomatin aus *L. glandulosum* und *L. chilense*. Über das Vorkommen von Tomatin in *L. glandulosum* und *L. chilense* ist bisher noch nicht berichtet worden. Wie üblich wurde das getrocknete und pulverisierte Pflanzenmaterial mehrmals mit 2%iger Essigsäure in der Wärme ausgezogen, die vereinigten sauren Extrakte mit NH_3 alkalisch gemacht und der gebildete Niederschlag über Nacht gut absitzen gelassen. Dieses abfiltrierte und getrocknete Rohtomatin ließ sich nach Extraktion mit Äthanol durch Cholesterin fällen. Die so erhaltene weiße Additionsverbindung konnte nach Angaben von SCHREIBER (1957) gespalten werden, indem sie in warmem Eisessig gelöst wurde. Durch Stehenlassen bei Zimmertemperatur kristallisierte Cholesterin in schönen Nadeln aus. Nach Verdünnen mit Wasser wurde von ausgeschiedenem Cholesterin abfiltriert, das Tomatin mit NH_3 gefällt und mehrfach aus Äthanol umkristallisiert. Papierchromatographisch unterschied es sich nicht von Tomatin aus anderen *Lycopersicon*-Arten.

$$[\alpha]_D = -29^0 \pm 3^0 \text{ (Pyridin)}$$

Literaturangaben: $[\alpha]_D - 30^0$ (KUHN u. LÖW 1948), $[\alpha]_D - 19^0$ (KUHN, LÖW und GAUHE 1950).

Hydrolyse von Tomatin: 1,64 g Tomatin wurden in 150 ml 1 n methanolischer HCl 4 Std bei 100° C hydrolysiert. Nach dem Abdestillieren des Methanols wurde das aus der erkalteten Lösung auskristallisierte Tomatinhydrochlorid abfiltriert, mit Wasser gut gewaschen und getrocknet. (Ausbeute: 0,65 g; ber. 0,71 g.) Zur Gewinnung der freien Base wurde die methanolische Lösung des Salzes mit NH_3 versetzt und das ausgeschiedene Tomatidin mehrfach aus 80%igem Äthanol umkristallisiert. Mikro-Fp. 203—204° C. Mischschmelzpunkt mit authentischem Tomatidin unverändert. Das IR-Spektrum[2] stimmte mit dem von FONTAINE, ARD u. MA (1951) angegebenen überein.

$$[\alpha]_D = +6{,}4^0 \; (c = 1{,}55, \text{ Chloroform}).$$

---

[1] Herrn Prof. C. M. RICK, Davis, und Herrn Dr. K. SCHREIBER, Mühlhausen, möchte ich auch an dieser Stelle noch einmal für die Überlassung des Samenmaterials danken.

[2] Für die Anfertigung des IR-Spektrums sei Herrn Priv.-Doz. Dr. SPECHT, Institut für Gärungsgewerbe, Berlin, auch an dieser Stelle aufrichtig gedankt.

3. Bestimmung von Tomatin. Bei 90° C getrocknetes Pflanzenmaterial wird pulverisiert, 3mal mit der zehnfachen Menge 2%iger Essigsäure in der Wärme ausgezogen und die vereinigten Extrakte mit konz. NH_3 versetzt. Ist weniger als 0,5% Tomatin bezogen auf das Trockengewicht zu erwarten, wird entsprechend weniger Essigsäure genommen. Vom gut abgesetzten Niederschlag abfiltriert, wird das getrocknete, fein gepulverte Rohtomatin, zusammen mit dem Filterpapier fünfmal eine Stunde auf dem siedenden Wasserbad mit soviel 95%igem Äthanol extrahiert, daß insgesamt eine ca. 0,1%ige Lösung entsteht. Waren a ml Äthanol dafür notwendig, so sind a/10 ml einer Lösung von 1 g Cholesterin in 100 ml 95%igem Äthanol hinzuzufügen. Die in der Wärme zusammengegebenen Lösungen bewahrt man anschließend im Eisschrank bei 3° C 48 Std auf. Unter diesen Bedingungen ist die Fällung von Tomatin praktisch vollständig (Schulz und Sander 1957). Die ausgeschiedene Molekülverbindung wird auf einer Glasfritte G 3 gesammelt, mit Cholesterin-tomatid gesättigtem Äthanol gewaschen, bei 90° C getrocknet und gewogen. Durch Multiplikation mit 0,728 ergibt sich der Gehalt an Tomatin in der Molekülverbindung.

Dieses Verfahren liefert gut reproduzierbare Werte, wie sich durch folgende Prüfung ergab:

Zu je 4,0 g tomatinfrei extrahiertem Blattpulver wurden 40—50 mg reines Tomatin gegeben und der Ansatz wie beschrieben aufgearbeitet. Ohne Berücksichtigung der Löslichkeit des Tomatins in der ammoniakalischen Lösung ließen sich 89% des eingesetzten Tomatins mit einem mittleren Fehler von ± 1% zurückgewinnen. Da in den folgenden Versuchen stets nach dem gleichen Verfahren gearbeitet wurde und es lediglich auf den relativen Gehalt der einzelnen Pflanzen ankam, kann dieser Fehler unberücksichtigt bleiben.

III. Versuche

1. Beobachtungen zum Photoperiodismus der Blütenentwicklung. Nach Luckwill (1943) sollen die Arten der Untergattung *Eriopersicon* KT-Pflanzen sein, die unter den Bedingungen in Schottland im Sommer kaum blühen, während die *Eulycopersici* sich tagneutral verhalten. Die photoperiodische Induktion ist reversibel und kann mit Änderung der Kulturbedingungen rückgängig gemacht werden. Luckwill beobachtete auch schon eine verschieden starke Ausprägung der photoperiodischen Reaktion, der zufolge bei *L. glandulosum* und *L. hirsutum* noch nicht einmal Blüten angelegt wurden, bei *L. peruvianum* und *L. pissisi* die Blütenanlagen sich immerhin zu einer Länge von 15—40 mm entwickelten bevor sie abfielen.

Grundsätzlich gleiches Verhalten beobachtete ich an dem mir zur Verfügung stehenden Pflanzenmaterial, wobei sich allerdings, wohl infolge der geringeren geographischen Breite, quantitative Unterschiede zeigten. So gelangten alle Vertreter von *L. peruvianum* (LA 153, LA 16 und LA 150) und *L. hirsutum* auch unter den hiesigen LT-Bedingungen zu vollständiger Blütenentwicklung und zum Fruchtansatz. *L. glandulosum* (LA 119) verhielt sich insofern anders, als von acht Pflanzen im Sommer 1956 lediglich ein Trieb Ende September zwei Blütenstände hervorbrachte; die 12 im Freiland gezogenen Pflanzen des Jahres 1957

brachten keine einzige der Blütenanlagen zur Entwicklung. Mit der relativ kürzeren Tageslänge gegenüber den Bedingungen in Schottland ist also auch eine etwas weiter fortschreitende Entwicklung der reproduktiven Phase verbunden.

Der Umwelteinfluß auf die Blütenentwicklung konnte bei *L. glandulosum* sehr klar durch folgende Versuche demonstriert werden:

1. Am 7. 8. wurde eine Pflanze, die bis zu diesem Zeitpunkt lediglich Blütenstände angelegt hatte, ins Gewächshaus genommen und dort unter 8stündigem KT gehalten. Nach vier Wochen öffneten sich die ersten Blütenknospen.

2. Von den 6 unter 8stündigem KT im Gewächshaus gehaltenen Pflanzen setzten 5 Anfang Oktober, mit Beginn der Heizperiode aus, ihre Blütenanlagen zur Entwicklung zu bringen. Während des Winters blühte trotz der KT-Bedingung nur eine Pflanze (als Klon 3 weitergezogen) in allerdings schwachem Ausmaß. Ende Februar begannen 4 Pflanzen erneut mit ihrer Blütenentwicklung, bei einer verharrten die Blüten auch am 1. April noch in ihrem Anlagestadium (Stammpflanze des Klon 5).

Diese Beobachtung deutete darauf hin, daß der Grad der Empfindlichkeit der Blütenentwicklung auf äußere Einflüsse erblich festgelegt sein kann. Daher wurden für die folgenden Versuche Stecklinge von den einzelnen Pflanzen abgenommen, um genetisch einheitliches Material zu haben. Klon 3 zeigte die stärkste Blütenentwicklung, Klon 5 die schwächste und die Klone 1, 2 und 4 wiesen intermediären Charakter auf.

Ein so extremer KT-Charakter wie bei *L. glandulosum* war bei *L. hirsutum* nicht festzustellen. Unter den mitteleuropäischen Bedingungen gelangten die Pflanzen nicht nur zur Entwicklung sondern auch zum Fruchtansatz und zur Fruchtreife. Aber eine Verzögerung der Blütenentwicklung im LT ergab sich durch folgenden Versuch: Je 2 unter 8stündigem KT bzw. natürlichem LT im Gewächshaus gezogene Pflanzen wurden am 1. 7. zurückgeschnitten. Die neuen Triebe, der unter den gleichen Bedingungen weiterkultivierten Pflanzen hatten im KT nach 4 Wochen die ersten Blütenknospen gebildet, während die LT-Pflanzen noch nach 6 Wochen vegetativ waren.

Bei *L. chilense* liegen die Verhältnisse unklar. Allerdings standen mir nur 3 Klone zur Verfügung. Nach 2monatiger Kultur in 8stündigem KT hatte sich in keinem Fall eine Blüte entwickelt, die Pflanzen eines Klones bekamen nach 4 Wochen braune Triebspitzen und waren nach 6 Wochen eingegangen. Offenbar war für diese besonders lichtbedürftige Art die zur Verfügung stehende Lichtmenge nicht ausreichend. Unter den vegetativ bedeutend kräftiger entwickelten LT-Pflanzen war eine zur Blüte gelangt, doch scheint es verfrüht, daraus gleich auf einen LT-Charakter zu schließen. Das Verhalten der Freilandpflanzen in den

Vegetationsperioden 1956 und 1957 war ebenfalls sehr unterschiedlich. Ohne irgendeine Regelmäßigkeit erkennen zu lassen wurden stets Blütenstände angelegt, die sich hier und da gelegentlich bis zur Entfaltung der Blüten entwickelten. Ein Fruchtansatz mit fertilen Samen konnte bisher nicht beobachtet werden, so daß ich auf vegetative Vermehrung angewiesen war. Infolge der geringen Wurzelentwicklung selbst der kräftigsten Pflanzen bereitet die Stecklingsvermehrung erst recht einige Schwierigkeiten. Das vegetative Wachstum war allerdings bei hoher Luftfeuchtigkeit gut, wie es auch Rick und Lamm (1955) angeben.

2. Beobachtungen zum Thermoperiodismus der Blütenentwicklung. Wie erwähnt, blühten Pflanzen der Art *L. glandulosum*, die den ganzen Sommer unter KT-Bedingungen geblüht hatten, im Winter bei der gleichen Tageslänge nicht, begannen jedoch im Frühjahr ihre Blütenanlagen wieder zur Entwicklung zu bringen. Man kann daran denken, die Verminderung der Lichtintensität im Winter hierfür verantwortlich zu machen, doch näherliegend scheint es, den Temperaturfaktor in Rechnung zu stellen. Es läßt sich wohl ganz allgemein sagen, daß Tomatenpflanzen auf Temperaturschwankungen recht empfindlich reagieren, wie zahlreiche Arbeiten gezeigt haben (Went 1953). Schädigungen durch ungünstige Licht-Dunkelcyklen können durch Temperaturwechsel ausgeglichen werden (Hillmann 1956). In ihrer Heimat Peru wächst *L. glandulosum* in der Regel in den Höhenlagen über 2000 m und ist einem extremen täglichen Temperaturwechsel ausgesetzt. Es war auffallend, daß das Aussetzen der Blütenentwicklung bzw. ihr Wiedereinsetzen mit dem Ausbleiben der Temperaturschwankungen bzw. ihrem Wiedereinsetzen im Gewächshaus zusammenfiel. Die täglichen Temperaturdifferenzen betrugen (Extremwerte in Klammern):

Gewächshaus — Winter	Gewächshaus — Sommer
(8°) 10—14° (18°) C	(15°) 17—30° (35°) C
(70) 75—85 (90) %	(40) 60—90%
relat. Luftfeuchtigkeit	relat. Luftfeuchtigkeit

Wegen der Lichtbedürftigkeit der Pflanzen war das Gewächshaus im Sommer nicht beschattet worden.

Leider stand keine Klimaanlage zur Verfügung, um die Annahme einer Thermoperiodizität der Blütenentwicklung beweisen zu können. Es deutet aber folgender Versuch in diese Richtung: In 2 Kulturräumen wurden je 3 Pflanzen bei gleicher Lichtintensität (6000—7000 Lux in 20 cm Abstand von der Leuchtstoffröhre) bei 8stündigem KT bei 28 bis 31° C, 68—78% relative Luftfeuchtigkeit bzw. bei 23—33° C, 60 bis 70% relat. Luftfeuchtigkeit 2,5 Monate kultiviert. Die Exemplare in dem relativ temperaturkonstanten Raum hatten sich vegetativ kaum entwickelt und nur 2 Blütenstände angelegt. Eine Pflanze war nach 2 Monaten sogar eingegangen. Unter sonst gleichen Bedingungen, nur mit

einem täglichen Temperaturwechsel von 10° C statt 3° C, hatten die anderen Pflanzen in der gleichen Zeit ihr Frischgewicht auf mehr als das 3fache gesteigert und z. T. wohlentwickelte Blütenknospen gebildet. Bis zur vollen Öffnung der Blüten konnten allerdings auch sie nicht gebracht werden, was wohl an den relativ hohen Nachttemperaturen (23°C), die aus technischen Gründen nicht weiter gesenkt werden konnten, lag. (Über ihren Tomatingehalt s. Tabelle 6.)

Damit ergeben sich für eine erfolgreiche Kultur von *L. glandulosum* 2 Forderungen: hohe Lichtintensität und möglichst großer täglicher Temperaturwechsel. Die normalerweise verwendeten Leuchtstoffröhren HNI de Luxe und HNT im Verhältnis 1:1 (RUGE 1954) reichen zu einer erfolgreichen Kultur besonders im 8stündigen KT nicht aus. Bewährt hat sich eine zusätzliche UV-Röhre (Philipps TL 40 W/10), die 50 cm über den anderen Röhren montiert war und jeden 3. Tag eingeschaltet wurde, verbunden mit Leuchtstoffröhren HNW de Luxe 220 R.

Als Beispiel seien Gewichtszunahmen bei folgenden Kulturbedingungen in Tabelle 2 und 3 angegeben:

I KT (8 Std), Gewächshaustemperatur (15°) 17—30° (35°) C.
II LT natürliche Tageslänge, Gewächshaustemperatur wie Nr. I.
III KT (8 Std), künstliche Beleuchtung wie beschrieben. Temperatur 26—30° C.
IV LT (16 Std), sonst wie III.

Kulturbeginn 1. 4. 57, 50—60 cm hohe Stecklinge (Frischgewicht ca. 10—15 g) mit 2—3 Trieben in Mitscherlich-Gefäßen.

Tabelle 2. *Frisch- und Trockengewicht von L. glandulosum im KT und LT, bei täglichem Temperaturwechsel und relativer Temperaturkonstanz*

Datum	I			II			III			IV		
	Fr.-Gew.	Tr.-Gew.	Tr.-Subst. in %	Fr.-Gew.	Tr.-Gew.	Tr.-Subst. in %	Fr.-Gew.	Tr.-Gew.	Tr.-Subst. in %	Fr.-Gew.	Tr.-Gew.	Tr.-Subst. in %
15. 5.	167,0	24,83	14,9	286,0	45,24	15,8	20,3	3,09	15,2	66,2	11,04	16,7
1. 6.	235,0	45,32	19,3	389,0	82,96	21,3	22,3	3,95	17,7	86,8	17,25	19,9
15. 6.	250,0	46,0	18,4	464,0	100,7	21,7	25,65	4,79	18,7	71,2	12,59	17,7

Wie aus Tabelle 2 ersichtlich, verhalten sich die Frisch- und Trockengewichte unter den verschiedenen Kulturbedingungen I:II:III:IV = 10:18:1:3,5 (abgerundet). Das heißt, unter Berücksichtigung der ungünstigeren künstlichen Beleuchtung beträgt der Substanzgewinn der LT-Pflanzen gegenüber den KT-Pflanzen bei Temperaturkonstanz das 3,5fache, im Gewächshaus dagegen noch nicht einmal das Doppelte. Mit anderen Worten: Der das vegetative Wachstum hemmende Einfluß

Tabelle 3. *Frisch- und Trockengewicht bei verschiedener Beleuchtung unter Kulturbedingung IV*

Datum	Klon	HNI und HNT 1:1			HNW de Luxe 220 R		
		Fr.-Gew.	Tr.-Gew.	Tr.-Subst. in %	Fr.-Gew.	Tr.-Gew.	Tr.-Subst. in %
1. 6.	2	86,8	17,25	19,9	117,0	22,49	19,2
10. 6.	1	86,1	16,39	19,0	104,0	20,00	19,2
15. 6.	4	71,2	12,59	17,7	119,1	21,11	17,7
21. 6.	3	95,4	19,36	20,3	119,4	23,14	19,4

Abb. 1. *L. glandulosum* unter verschiedenen Kulturbedingungen von links nach rechts II, I, IV, III. Erklärung im Text

des KT kann durch einen Temperaturwechsel in gewissen Grenzen kompensiert werden. Einen Eindruck von den vier unter den angegebenen Bedingungen gezogenen Pflanzen eines Klones gibt Abb. 1.

Unter den Kulturbedingungen II, III und IV wurden Blütenstände angelegt, die sich verschieden weit, doch nur vereinzelt bis zum Öffnen der Knospen entwickelten. Quantitativ waren die Verhältnisse unter den gegebenen Möglichkeiten nicht zu erfassen, da wahrscheinlich zusätzlich ein genetisch bestimmter Faktor mitspielt. So brachte der blühwilligste Klon 3 nach 4monatiger Kultur unter LT-Bedingung II 4 Blütenstände mit 2—4 Blüten und unter IV eine Blüte hervor, deren Antheren jedoch stets gebogen und mangelhaft verwachsen waren. Bei dem am schlechtesten blühenden Klon 5 wurden im LT nicht einmal Blütenanlagen erzielt.

Eine Überprüfung dieser Beobachtungen an einem größeren Pflanzenmaterial und unter methodisch besseren Kulturbedingungen als den

Tabelle 4. *Tomatingehalt in Prozent des Trockengewichts der Blätter der Stammpflanzen*

Stamm-pflanze	Dez.—Jan. 56/57	Toma-tin-gehalt	1. 4. 57	Toma-tin-gehalt	10. 10. 57	Toma-tin-gehalt
1	Blütenanlagen	0,83	blühend	0,46	Blütenanlagen LT	1,74
2	Blütenanlagen	0,83	blühend	0,46	Blütenanlagen LT	1,76
3	schwach blühend	1,29	blühend	0,86	—	—
4	Blütenanlagen	0,28	blühend	0,55	Blütenanlagen LT	1,43
5	Blütenanlagen	1,36	vegetativ	1,71	Blütenanlagen LT	1,96

mir z. Z. zur Verfügung stehenden ist notwendig. Im Rahmen dieser Arbeit interessierte vor allem die Änderung des Tomatingehaltes in Beziehung zur vegetativen und reproduktiven Phase der Pflanzen.

3. Tomatingehalt bei *L. glandulosum*. Die 5 untersuchten Klone, die sich, wie beschrieben, in ihrem Verhalten gegenüber äußeren Einflüssen unterschieden, zeigten auch einen verschieden hohen Tomatingehalt. Diese Unterschiede im Tomatinspiegel blieben während einjähriger Beobachtung unter Berücksichtigung der äußeren Einflüsse und des physiologischen Zustandes der Pflanzen annähernd konstant, so daß auf seine genetische Festlegung geschlossen werden kann. Den höchsten Glykosteroidgehalt hatte Klon 5, einen intermediären zeigte Klon 3, während die Klone 1, 2 und 4 den geringsten aufwiesen.

Die wahrscheinlich genetisch bedingten Unterschiede im Tomatinspiegel sind jedoch so gering, daß damit in keiner Weise die beträchtlichen Gehaltsdifferenzen vegetativer LT-Pflanzen und blühender KT-Pflanzen, wie sie im Sommer 1956 beobachtet wurden (SANDER 1957) erklärt werden können. Es war anzunehmen, daß die äußeren Einflüsse entweder direkt (z. B. längerer Assimilationsdauer — größere Tomatinbildung; längere Dissimilationsperioden — größerer Tomatinabbau) oder

Tabelle 5. *Tomatingehalt ganzer Sprosse des Klones 1 in Abhängigkeit von den Kulturbedingungen I—IV* (s. S. 452 *nach 2 Monaten*)

Datum	Kultur-bedingung	Je Sproß		Tr.-Subst. in %	Tomatingehalt		
		Fr.-Gew.	Tr.-Gew.		in mg	Fr.-Gew. %	Tr.-Gew. %
7. 6.	I	270,0	48,37	17,9	7,0	0,003	0,01
8. 6.	II	490,0	111,96	22,8	494,3	0,10	0,44
10. 6.	III	27,6	4,81	17,4	11,9	0,04	0,25
9. 6.	IV	95,1	18,20	19,1	98,4	0,10	0,54

indirekt über den Einfluß auf den physiologischen Zustand (reproduktive Phase) das genetisch festgelegte Niveau des Tomatingehaltes modifizieren. Damit ergeben sich folgende Versuchsfragen: Hängt der Tomatingehalt unmittelbar a) von der Photoperiode, b) von der Thermoperiode, oder c) von der Blütenentwicklung als solcher ab.

a) Abhängigkeit von der Photoperiode. Am 17. 1. 57 wurden von den Stammpflanzen Triebspitzen zur Bewurzelung abgenommen. Nach zweimaligem Umtopfen gelangten die Stecklinge am 20. 3. in Mitscherlichgefäße und am 1. 4. unter die bereits beschriebenen Kulturbedingungen.

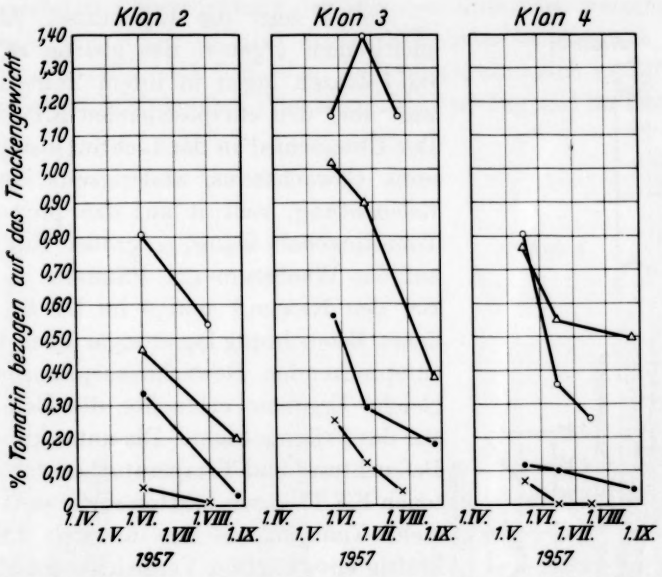


Abb. 2. Tomatingehalt ganzer Sprosse der Klone 2, 3 und 4 in Abhängigkeit von den Kulturbedingungen I—IV bezogen auf das Trockengewicht. ×——× I KT — Gewächshaus; ○——○ II LT — Gewächshaus; ●——● III KT — künstliche Beleuchtung relat. Temperaturkonstanz △——△ IV LT — künstlliche Beleuchtung relat. Temperaturkonstanz

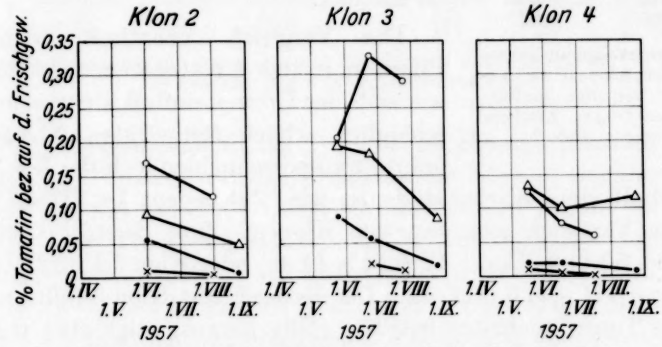


Abb. 3. Wie Abb. 2, aber bezogen auf das Frischgewicht

Die Ergebnisse der Tomatinanalysen sind für Klon 1 in Tabelle 5 ausführlich dargestellt, diejenigen mit den Klonen 2, 3 und 4, von denen mehr Material zur Verfügung stand und von denen mehrere Analysen zu verschiedenen Zeitpunkten gemacht werden konnten, sind in Abb. 2 und 3 graphisch wiedergegeben.

Dieser Versuch wurde mit dem besonders gehaltreichen Klon 5 bei kürzerer Versuchsdauer im Sommer wiederholt.

Triebspitzen am 1. 4. zur Bewurzelung in Sand gesteckt. Versuchsbeginn am 1. 7. in Mitscherlichgefäßen.

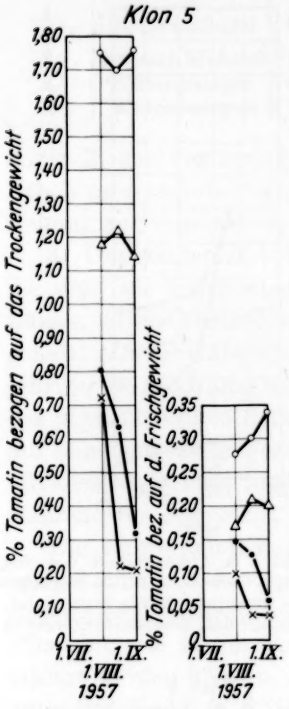


Abb. 4. Tomatingehalt ganzer Sprosse des Klons 5 in Abhängigkeit von den Kulturbedingungen I—IV. Zeichenerklärung s. Abb. 2

Abb. 4 zeigt die Ergebnisse. Alle Versuchsreihen ergeben das gleiche Bild: Die LT-Pflanzen lagen in ihrem Tomatingehalt weit über den entsprechenden KT-Pflanzen. Der Unterschied in der Lichtintensität einerseits Gewächshaus, andererseits künstliche Beleuchtung, scheint auf den prozentualen Tomatingehalt keinen so großen Einfluß wie auf das Wachstum der Pflanzen zu haben. Bei den Klonen 1 und 4 im LT bei künstlicher Beleuchtung lag er sogar über dem der entsprechenden Gewächshauspflanzen. Das gleiche Ergebnis erbrachte die Berechnung auf das Frischgewicht. Die unter künstlicher Beleuchtung und Temperaturkonstanz gehaltenen KT-Pflanzen führten sogar stets relativ mehr Tomatin als ihre an sich 10mal so kräftig entwickelten Vergleichsexemplare im Gewächshaus. In diesem Falle ist wohl ohne Zweifel die reproduktive Phase für das Absinken des Tomatinspiegels verantwortlich zu machen.

Der Vergleich genetisch identischer Pflanzen in den 4 Kategorien zeigt deutlich, wie sich der Umwelteinfluß auf einem wahrscheinlich erblich festgelegten Niveau aufprägt. So überschneiden sich die Tendenzen, die innerhalb eines Klones eindeutig wie folgt liegen: $I < III < IV \geqq II$ bei einem Vergleich zwischen den Klonen. Zum Beispiel Klon 3 III 0,57% (20. 5.) und Klon 1 IV 0,54% (9. 6.) oder Klon 3 I 0,12% (21. 6.) und Klon 4 III 0,11% (17. 6.). Der Versuch mit Klon 5 fällt, was die Höhe des Tomatingehaltes betrifft, völlig heraus, zeigt aber trotzdem übereinstimmend mit den anderen die gleiche Tendenz.

Diese Ergebnisse ließen sich durch unveröffentlichte Versuche von MÄHNERT (1958) im folgenden Jahr reproduzieren.

Je 6 Stecklinge der Klone 2 und 5 wurden am 3. 5. 58 in 12 Std- und 14 Std-Tag gebracht bzw. unter Dauerlicht. Nach 6 Wochen begannen sich im 12 Std-Tag die ersten Blütenstandsanlagen zu entfalten, die Pflanzen im 14 Std-Tag und im Dauerlicht hatten selbst nach 3 Monaten nur vereinzelt Blütenstände angelegt, aber

keine zur Entwicklung gebracht. Im 12 Std-Tag waren es dagegen 202 Anlagen bei Klon 2 und 141 bei Klon 5, außerdem 84 bzw. 64 Blütenstände mit entfalteten Blüten.

Aus den Analysenergebnissen (Abb. 5) geht der geringe Unterschied in der vegetativen Entwicklung der Pflanzen unter den verschiedenen Kulturbedingungen hervor, aber große Differenzen zeigten sich im Tomatinspiegel bereits nach 6 Wochen und verstärkten sich in der Folgezeit. Bei den nichtblühenden Pflanzen im 14 Std-Tag und im Dauerlicht

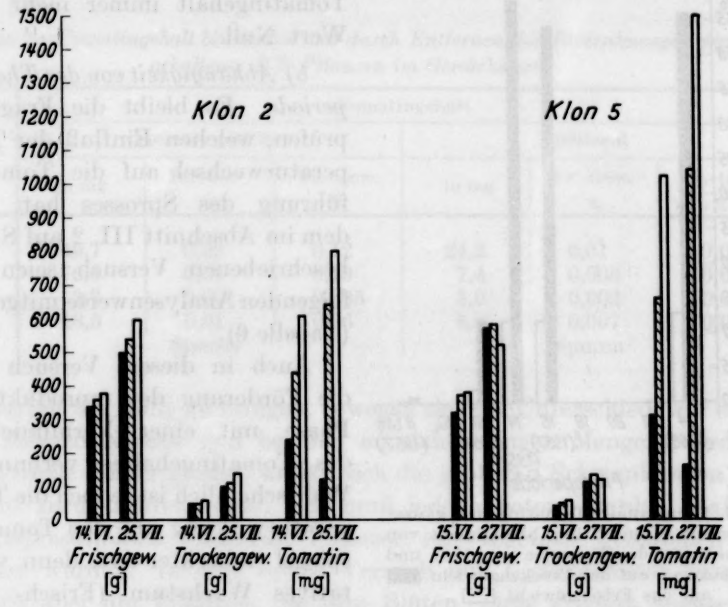


Abb. 5. Tomatingehalt ganzer Sprosse der Klone 2 und 5 im 12 Std-Tag ■, 14 Std-Tag ▨ und im Dauerlicht □

nahm der Tomatingehalt in mg je Sproß im gleichen Ausmaß zu. Bei Berechnung in Prozent auf das Frischgewicht blieb er annähernd konstant und fiel nur auf das Trockengewicht bezogen ab, da der prozentuale Anteil der Trockensubstanz in der Beobachtungszeit noch stärker zunahm (die ersten Blätter begannen bereits zu vergilben). Im gleichen Zeitraum war in den blühenden Pflanzen des 12 Std-Tages nicht nur der prozentuale Tomatingehalt bezogen auf Frisch- und Trockengewicht gesunken, sondern vor allem hatte auch der absolute Gehalt um 100 mg abgenommen.

Für diesen Tomatinschwund muß in erster Linie die Anlage der Blütenstände verantwortlich gemacht werden, wie sich sehr deutlich bei einem Vergleich der Ergebnisse beider Jahre herausstellt (Abb. 6). Der Tomatingehalt bei *L. glandulosum* nimmt in Abhängigkeit von der Photo-

periode sprunghaft mit dem Überschreiten der kritischen Tageslänge für die Blütenentwicklung zu. Es ist also nicht so, daß mit einer längeren Lichtdauer, und der damit verbundenen Möglichkeit zu größerer synthetischer Leistung auch mehr Tomatin produziert wird, vielmehr bewirkt die 2 Std-Differenz vom 12 Std- zum 14 Std-Tag die Verhinderung der Blütenentwicklung und eine Erhöhung des Tomatingehaltes um mehr als das fünffache in der 6wöchigen Versuchszeit. Bei länger dauernder Blütenbildung nähert sich der Tomatingehalt immer mehr dem Wert Null.

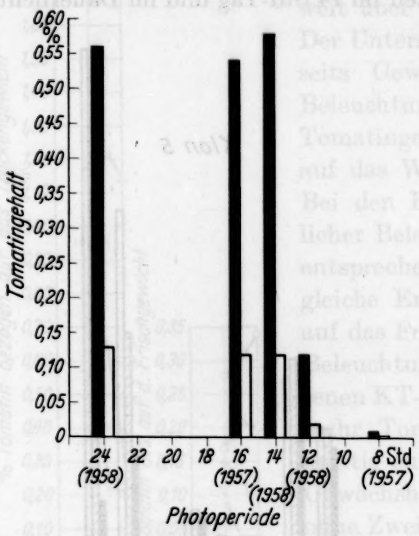


Abb. 6. Prozentualer Tomatingehalt ganzer Sprosse des Klons 2 in Abhängigkeit von der Photoperiode (Versuche von 1957 und 1958) bezogen auf das Trockengewicht ■ auf das Frischgewicht □

b) Abhängigkeit von der Thermoperiode. Es bleibt die Frage zu prüfen, welchen Einfluß der Temperaturwechsel auf die Tomatinführung des Sprosses hat. Aus dem im Abschnitt III, 2 auf S. 451 beschriebenen Versuch seien die folgenden Analysenwerte mitgeteilt (Tabelle 6).

Auch in diesem Versuch war die Förderung der reproduktiven Phase mit einer Verminderung des Tomatingehaltes verbunden. Wahrscheinlich ist jedoch die Temperaturwirkung auf den Tomatinspiegel indirekter Art, denn vegetatives Wachstum (Frisch- und Trockengewicht) und Ausbildung der reproduktiven Phase (Entwicklung der Blütenanlagen) wurden stärker beeinflußt. Der absolute Tomatingehalt in mg war bei Kultur unter Temperaturwechsel und relativer Temperaturkonstanz nahezu gleich hoch.

c) Abhängigkeit von der Blütenentwicklung. Es blieb als Drittes zu untersuchen, wie sich, unabhängig von Photo- und Thermoperiodismus, die Blütenentwicklung auf den Tomatingehalt auswirkt.

Kräftige, bis auf die Achselknospen zurückgeschnittene Wurzelstöcke der Klone 1—4 wurden im Gewächshaus unter KT-Bedingungen gebracht und die neugebildeten Triebe nach 4 Monaten analysiert. Bei der Hälfte der Pflanzen waren in einem möglichst frühen Stadium die Blütenknospen entfernt worden.

Dieser Versuch war analog demjenigen, der früher mit dem Bastard K 2 von *L. pimpinellifolium* ausgeführt wurde (SANDER 1956), angelegt worden und führte zu dem grundsätzlich gleichen Ergebnis. Da jedoch in diesem Fall die Pflanzen im KT gezogen werden mußten, um sie

Tabelle 6. *Tomatingehalt von KT-Pflanzen unter verschiedenen Temperaturbedingungen*

Temperatur	Beschreibung	Fr.-Gew. in g	Tr.-Gew. in g	Tr.-Subst. in %	Tomatingehalt		
					in mg	Fr.-Gew. %	Tr.-Gew. %
28—31°	verkümmerte Blütenanlagen	26,2	8,85	33,7	43,1	0,16	0,49
23—33°	entwickelte Blütenanlagen	83,4	16,59	19,9	47,0	0,06	0,28

Tabelle 7. *Tomatingehalt blühender und durch Entfernen der Blütenknospen vegetativ gehaltener KT-Pflanzen im Gewächshaus*

Klon	Tomatingehalt					
	vegetativ gehalten			blühend		
	in mg	Fr.-Gew. %	Tr.-Gew. %	in mg	Fr.-Gew. %	Tr.-Gew. %
2	49,7	0,02	0,12	24,2	0,01	0,07
3	76,6	0,04	0,19	7,4	0,005	0,02
4	2,7	0,001	0,005	5,0	0,002	0,01
4	18,5	0,01	0,06	6,8	0,007	0,04
1		Spuren			Spuren	

überhaupt zur Blüte zu bringen, bewegen sich die Unterschiede auf einem viel tieferen Niveau und bei den an sich geringen Mengen, wird der analytische Fehler größer, so daß sich die größeren Schwankungen z. T. darauf zurückführen lassen. Es muß jedoch betont werden, daß bei *L. pimpinellifolium fruchtende* Pflanzen mit vegetativ gehaltenen verglichen wurden. In dem neuen Versuch mit *L. glandulosum* handelte es sich aber um Pflanzen, die ihre Blüten, ohne Früchte anzusetzen, abwarfen. Die Gehaltsminderung muß also auf einen „Verbrauch" im Laufe der Blütenentwicklung zurückgeführt werden.

Wie sehr sich die rotfrüchtige *L. pimpinellifolium* von der grünfrüchtigen *L. glandulosum* unterscheidet, geht auch aus einem Vergleich ihrer Tomatinführung in den Blüten hervor.

Zu den Analysen wurden je 120 Blüten zusammengefaßt und das Ergebnis auf die Einzelblüte bezogen.

Wie Abb. 7 zeigt, findet in den wenigen Tagen, in denen die Blüten die drei untersuchten Stadien (Knospe — geöffnete Blüte — verblühte Blüte) durchlaufen, bei *L. pimpinellifolium* eine starke Zunahme des Tomatingehaltes statt, während er bei *L. glandulosum* eine gleichbleibende bis leicht fallende Tendenz aufweist.

Glandulosum-Früchte standen nur wenige zur Verfügung, so daß nur eine Analyse durchgeführt werden konnte. Aus 12 reifen Früchten (9,90 g Frischgewicht) nach der üblichen Methode durch Cholesterinfällung aufgearbeitet, ließ sich ein so minimaler Niederschlag abscheiden, daß er nicht näher identifiziert werden

konnte. Es ist aber sehr wahrscheinlich, daß es sich um Tomatin handelt. Mit reifen *pimpinellifolium*-Früchten wurde überhaupt kein Niederschlag erzielt.

Aus diesen Befunden ergibt sich, daß im Fall *glandulosum* ein Abbau des Glykosteroids während der Blütenentwicklung nicht ausgeschlossen ist. Bei *L. pimpinellifolium* müßte er, falls überhaupt vorhanden, von einer intensiveren Synthese in situ oder einem stärkeren Zustrom aus dem Sprosse überdeckt sein.

Überblickt man die bisherigen Ergebnisse, so zeigt sich, daß von den drei betrachteten Faktoren (Tageslänge, Temperaturwechsel, Blüten-

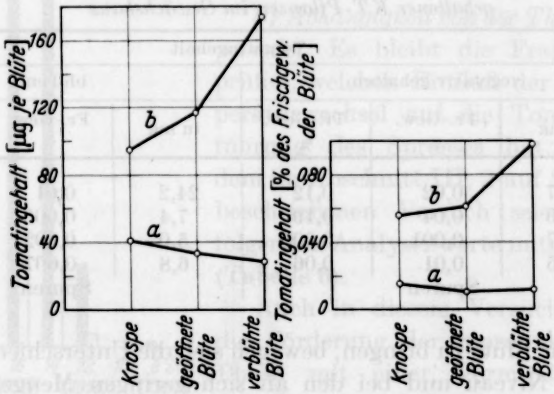


Abb. 7. Tomatingehalt einzelner Blüten von *L. glandulosum* (*a*) und *L. pimpinellifolium* (*b*) in Abhängigkeit von ihrem Entwicklungszustand

entwicklung), die einen Einfluß auf den Tomatingehalt haben können, keiner ohne Wirkung ist, wobei sich allerdings die Temperaturwirkung als gering und wahrscheinlich indirekter Natur erweist. Es hat den An-

Tabelle 8. *Tomatingehalt der Triebe von L. hirsutum unter den Kulturbedingungen I—IV* (vgl. S. 452)

	Kulturbedingungen	Je Sproß		Tr.-Subst. in %	Tomatingehalt		
		Fr.-Gew.	Tr.-Gew.		in mg	Fr.-Gew. %	Tr.-Gew. %
I	blühend	271,0	39,04	14,4	513,5	0,19	1,31
II	blühend	309,0	50,09	16,2	838,2	0,27	1,65
III	mit Blütenanlagen	127,0	16,38	12,9	291,8	0,23	1,78
III	mit Blütenanlagen	162,0	20,84	12,9	329,5	0,20	1,58
IV	ohne Blütenanlagen	211,0	27,59	13,1	341,9	0,16	1,24
IV	ohne Blütenanlagen	254,0	31,20	12,3	649,3	0,26	2,08

schein, daß im Laufe der Blütenentwicklung Tomatin in geringem Umfang „verbraucht" wird. Den größten Einfluß hat die Tageslänge, verbunden mit der Induktion der reproduktiven Phase.

4. Versuche mit *L. hirsutum* und *L. chilense*. Die im vorangegangenen Abschnitt geschilderten Ergebnisse werden durch einige orientierende Versuche mit anderen Vertretern der *Eriopersici* bestätigt. Wie bereits erwähnt (S. 450), zeigten die untersuchten Pflanzen von *L. hirsutum* keinen so ausgeprägten KT-Charakter wie *L. glandulosum*. Auffälligerweise erwies sich auch der Tomatingehalt unter den verschiedenen Kulturbedingungen ausgeglichener.

Am 14. 2. 57 wurden 6 kräftige Pflanzen zurückgeschnitten und nach Austrieb der unteren Achselknospen, die jungen Schößlinge am 1. 4. unter die Kulturbedingungen I—IV (vgl. S. 452) gebracht. Die Analyse der nach einem Monat geernteten Sprosse ergab folgende Werte (Tabelle 8).

Bei einer Wiederholung des Versuches mit Pflanzen eines Klones im folgenden Jahr unter anderen Photoperioden (MÄHNERT 1958, unveröffentlicht) ergab sich das gleiche Bild: Kleine Differenzen in der Zahl der Blütenanlagen gehen mit kleinen Differenzen im Tomatingehalt parallel.

Tabelle 9. *Tomatingehalt ganzer Sprosse eines Klones von L. hirsutum in verschiedenen Tageslängen*

Datum	Photoperiode in Std	Zahl der Blütenanlagen	Je Sproß		Tr.-Subst. in %	Tomatingehalt		
			Fr.-Gew.	Tr.-Gew.		in mg	Fr.-Gew. %	Tr.-Gew. %
15. 6.	12	31	615,0	96,70	15,7	956,1	0,16	0,99
15. 6.	14	20	637,0	95,96	15,1	848,3	0,13	0,88
15. 6.	24	20	573,0	89,49	15,6	1110,3	0,19	1,24
29. 7.	12	33	766,0	158,2	20,7	1576,5	0,21	1,00
29. 7.	14	11	901,0	196,8	21,8	1930,4	0,21	0,98
29. 7.	24	13	817,0	198,0	24,2	2464,0	0,30	1,24

Ebenso gering waren die Unterschiede bei einem Versuch mit *L. chilense:*

Von 3 Stammpflanzen wurden am 1. 4. Triebspitzen zur Bewurzelung abgenommen. Nach 3 Monaten gelangten die jungen Pflanzen in Mitscherlich-Gefäßen unter die üblichen Kulturbedingungen. Von Klon 1 standen 8, von Klon 2 4 und von Klon 3 3 Pflanzen zur Verfügung. In letzterem Falle wurde je ein Exemplar im Gewächshaus unter KT bzw. LT gehalten und eins im Freiland kultiviert. Tabelle 10 enthält die Ergebnisse.

Ähnlich wie bei *L. hirsutum* war auch in diesem Falle der Einfluß der Tageslänge auf die Entwicklung der reproduktiven Phase wenig ausgeprägt. (Bei *L. chilense* blühte nur eine im LT gezogene Pflanze.) Trotz der wenigen Versuche, die mit beiden Arten durchgeführt wurden, zeichnet sich doch deutlich der ebenso geringe Einfluß der Tageslänge auf den Tomatingehalt ab.

Tabelle 10. *Tomatingehalt der Triebe von L. chilense unter den Kulturbedingungen I—IV* (vgl. S. 452)

Datum	Kulturbedingungen		Je Sproß		Tr.-Subst. in %	Tomatingehalt		
			Fr.-Gew.	Tr.-Gew.		in mg	Fr.-Gew. %	Tr.-Gew. %
Klon 1								
2. 8.	I	mit Blütenanlagen	64,5	7,85	12,2	54,1	0,08	0,69
2. 8.	II	mit Blütenanlagen	129,6	16,97	13,1	165,8	0,13	0,98
3. 8.	III	ohne Blütenanlagen	15,4	2,92	18,9	27,1	0,18	0,93
3. 8.	IV	ohne Blütenanlagen	32,0	4,80	15,0	44,6	0,14	0,93
16. 8.	I	Triebspritzen braun, vertrocknet	66,0	8,56	12,9	39,8	0,06	0,46
16. 8.	II	mit Blütenanlagen	149,0	20,32	13,6	194,5	0,13	0,96
17. 8.	III	fast völlig eingegangen	17,2	3,49	20,3	32,3	0,19	0,93
17. 8.	IV	ohne Blütenanlagen	22,0	3,78	17,2	43,2	0,19	1,14
Klon 2								
19. 8.	I	mit Blütenanlagen	119,0	15,06	12,7	114,0	0,09	0,76
19. 8.	II	mit 1 Blütenstand	195,0	33,48	17,2	252,3	0,13	0,75
20. 8.	III	ohne Blütenanlagen	30,1	4,66	15,5	53,9	0,18	1,16
20. 8.	IV	ohne Blütenanlagen	24,6	4,40	17,9	33,9	0,14	0,77
Klon 3								
2. 9.	I	mit Blütenanlagen	157,0	19,90	12,7	89,5	0,06	0,45
2. 9.	II	mit Blütenanlagen	248,0	39,34	15,9	308,0	0,12	0,78
3. 9.	Freiland	mit Blütenanlagen	93,7	10,67	11,4	95,8	0,10	0,89

IV. Besprechung der Ergebnisse

Es ist eine häufige Beobachtung, daß Arzneipflanzen zur Blütezeit den höchsten Wirkstoffgehalt führen. Im Falle der rotfrüchtigen *Eulycopersici* wurde für diese Erscheinung eine Erklärung gesucht und die negative Tomatinbilanz nach der Blüte mit einem Tomatin-Abbau im Zuge der Fruchtreife in Verbindung gebracht (SANDER 1956). Bereits bei den nahe verwandten grünfrüchtigen *Eriopersici* liegen aber schon andere Verhältnisse vor. Aus ihnen konnte in den untersuchten Fällen Tomatin selbst im Stadium völliger Fruchtreife isoliert werden (SANDER 1958). Man kann also diese Befunde keineswegs verallgemeinern. Die Erscheinung, daß Pflanzen in der vegetativen Phase einen hohen Tomatingehalt aufweisen, der mit dem Übergang in die reproduktive Phase absinkt, muß noch auf andere Ursachen zurückgeführt werden können.

Am Beispiel des Nicotins wiesen MOTHES, ENGELBRECHT, TSCHÖPE und HUTSCHENREUTER-TREFFTZ (1957) nach, daß seine Bildung auf photoperiodischem Wege über die Blütenbildung, die wiederum das Wurzelwachstum steuert, beeinflußt werden kann. Ihre Ergebnisse sind in keiner Weise mit meinen direkt zu vergleichen, zeigen aber doch in überzeugender Weise, wie die Produktion sekundärer Pflanzenstoffe auf

physiologischem Wege reguliert wird. Die Bedeutung der Kenntnis dieser Regelmechanismen liegt auf der Hand. Wie durch frühere Untersuchungen gezeigt werden konnte (PROKOSCHEW, PETROTSCHENKO, ILJIN, BARANOWA und LEBEDEWA 1952; SANDER 1956), ist die Tomatinbildung im Gegensatz zur Nicotinbildung nicht mit dem Wurzelwachstum in Beziehung zu bringen. Vielmehr wurde darauf hingewiesen, daß Tomatingehalt und die reproduktive Phase der Pflanze in besonderem Maße zusammenhängen.

Man konnte eine photoperiodische Beeinflussung des Tomatinstoffwechsels vermuten, sofern die Blütenbildung von der Tageslänge abhängt. Zur experimentellen Prüfung dieses Gedankens waren die Versuche von den tagneutralen Kulturtomaten und ihren Halbkulturformen auf die photoperiodisch empfindlichen *Eriopersici* auszudehnen.

Auf Grund der neuen Untersuchungen kann die nicht allen *Lycopersicon*-Arten gleich hohe Empfindlichkeit der reproduktiven Phase für die Tageslänge (LUCKWILL 1943) bestätigt werden. Neben der Photoperiode scheint die Thermoperiode eine wichtige Rolle zu spielen. Bei der extremen KT-Pflanze *L. glandulosum* wirkt vor allem die Photoperiode in gleicher Weise auf Blütenbildung *und* Tomatinstoffwechsel. Damit erhebt sich die Frage: ist der Tomatingehalt die Ursache für die Blütenentwicklung, indem etwa ein hoher Gehalt die reproduktive Phase hemmt, oder reguliert umgekehrt die Blütenbildung den Tomatinstoffwechsel? Für die erste Möglichkeit würde die Tatsache sprechen, daß der besonders tomatinreiche Klon 5 die geringste Tendenz zur Blütenbildung zeigte, andererseits hatte aber der Klon 3 mit dem nächst höheren Gehalt die reichste Blütenbildung. Zugunsten der zweiten Möglichkeit ließe sich anführen, daß sich eine negative Bilanz des Tomatins beginnend mit der Blüteninduktion und fortschreitend mit ihrer Entwicklung direkt analytisch fassen läßt. Je länger die Pflanzen im reproduktiven Stadium verharrten, um so stärker sank nicht nur ihr relativer, sondern vor allem auch ihr absoluter Gehalt, d. h. es mußte bereits vorhandenes Tomatin stärker abgebaut werden als seine Neubildung stattfindet. Naheliegend ist es daher zunächst nach neu auftretenden Stoffen, die evtl. Umwandlungsprodukte des Tomatins sein können, zu suchen oder ferner an eine Ablenkung des Stoffwechsels zu denken, indem ein anderer Stoff an Stelle des Tomatins vermehrt gebildet wird. Diese Frage wird zur Zeit geprüft.

Bei den Steroid-Sapogeninen der Liliifloren liegen ähnliche Verhältnisse vor, wie MARKER und LOPEZ (1947) zeigen konnten. Die jungen Sprosse enthielten komplexe Mischungen dieser Aglyka, nach dem Übergang in die reproduktive Phase erschienen weniger und sauerstoffärmere Sapogenine.

In diesem Zusammenhang verdient die Arbeit von WOLF und DUGGAR (1946) besondere Erwähnung. Sie untersuchten die Wirkung der Tageslänge auf Synthese und Verteilung von Solanin in einer Kartoffelvarietät. Im allgemeinen wird die Kartoffel, *Solanum tuberosum*, als LT-Pflanze hinsichtlich ihrer Blütenbildung, im Bezug auf die Knollenbildung jedoch als KT-Pflanze angesehen (z. B. KOPETZ und STEINECK 1954; SCHULZE 1954; GROSCH 1956). Im Falle der im KT gezogenen Kartoffelpflanzen war eine starke Ansammlung von Solanin in den unterirdischen Organen (Stolonen, Knollen, Wurzeln) zu beobachten, verbunden mit einem mangelhaften Wachstum oberirdischer vegetativer Organe. Die Autoren schlossen auf eine Abwanderung von Solanin aus Blüten und Triebspitzen in die unterirdischen Organe, was auch PROKOSCHEW, PETROTSCHENKO und BARANOWA (1952) angeben und den Gegensatz zur Tomatenpflanze hervorheben, bei der sich das Tomatin im Laufe der Vegetationsperiode in den Blättern ansammelt. Der Gesamtsolaningehalt blühender LT-Pflanzen lag nur wenig über dem der KT-Pflanzen (0,085% bzw. 0,059% bezogen auf das Trockengewicht), wobei zu bemerken ist, daß das Trockengewicht der oberirdischen Organe der LT-Pflanzen das Dreifache desjenigen der KT-Pflanzen betrug. Leider wurden von den Autoren die an sich sehr solaninreichen Blüten nicht analysiert und daher ließ sich über den Einfluß der reproduktiven Phase nichts aussagen, zumal auch im KT Blüten angelegt wurden, die vorzeitig abfielen. Es geht jedoch aus diesen Versuchen eindeutig hervor, daß die Tageslänge einen wesentlichen Einfluß auf den Solaninhaushalt der Kartoffelpflanze hat.

Eine bedeutungsvolle praktische Konsequenz läßt sich schon jetzt aus diesen ersten Versuchsergebnissen über den photoperiodischen Einfluß auf den Tomatinstoffwechsel ziehen. Es ist die auffällige Tatsache hervorzuheben, daß eine Pflanze, die in ihrer natürlichen Umwelt (Peru, KT) praktisch wohl frei von Tomatin ist, z. B. *L. glandulosum*, in unserem Klima einen hohen Gehalt dieses wertvollen Stoffes aufweist. Eine statische Auffassung von der Pflanze ohne Berücksichtigung ihres physiologischen Zustandes würde zu Fehlschlüssen führen. Auf einer Sammelexkursion wäre sie als gehaltsarm unberücksichtigt geblieben und dabei ist gerade der physiologische Zustand, in dem sie gefunden worden wäre, in unserem Klima nur äußerst schwierig zu reproduzieren. Es wurde z. B. auch umgekehrt beobachtet, daß *Solanum nigrum* in Brasilien ungiftig sein soll (PECKOLT 1909). Wieweit jedoch gerade bei dieser Art mit chemischen Rassen gerechnet werden muß, mag dahingestellt sein.

Ein Beitrag zur allgemeinen Biochemie des Photoperiodismus ist durch diese Versuche wohl nicht gegeben, dazu ist das Vorkommen von Tomatin zu beschränkt, aber sie weisen darauf hin, daß evtl. der Steroid-

stoffwechsel als solcher in besonderem Maße von der Tageslänge und der reproduktiven Phase der Pflanze gesteuert wird.

Herrn Gartenmeister A. Huzenlaub und Fräulein G. Potthof danke ich für die gewissenhafte Pflege der Versuchspflanzen, Herrn H. Voigt für die Hilfe bei der Installation der Beleuchtungsanlage und der Deutschen Forschungsgemeinschaft für eine Sachbeihilfe.

Zusammenfassung

1. In *Lycopersicon glandulosum* Mull. und *L. chilense* Dun. wurde erstmalig Tomatin nachgewiesen und mit Hilfe seiner Cholesterin-Additionsverbindung gravimetrisch bestimmt.

2. *L. glandulosum* bringt nur im KT ihre Blüten zur Entwicklung. Sehr wahrscheinlich genügt jedoch der Photoperiodismus allein nicht, sondern es müssen tägliche Temperaturschwankungen (Thermoperiodismus) hinzukommen, um eine Blütenentwicklung zu gewährleisten.

3. KT- und LT-Pflanzen von *L. glandulosum* unterscheiden sich beträchtlich in ihrem Tomatingehalt, wobei die vegetativen LT-Pflanzen mehr als das Fünffache gegenüber den blühenden KT-Pflanzen aufweisen können. Es zeigte sich, daß die größere Lichtmenge im LT, der Temperaturwechsel und die Blütenentwicklung als solche einen geringen Einfluß haben und es sich um einen spezifisch photoperiodischen Effekt im Zusammenhang mit der Induktion der reproduktiven Phase handelt.

4. Bei *L. hirsutum* Humb. et Bonpl. und *L. chilense* Dun. mit weniger stark ausgeprägtem KT-Charakter wurden keine wesentlichen Unterschiede im Tomatingehalt bei KT- und LT-Pflanzen beobachtet.

Literatur

Fontaine, T. D., J. S. Ard and R. M. Ma: Tomatidine, a steroid secondary amine. J. Amer. chem. Soc. **73**, 878—879 (1951). — Grosch, H. G.: Weitere photoperiodische Versuche an Kulturkartoffeln. Z. Acker- u. Pflanzenbau **101**, 301—320 (1956). Ref. Ber. wiss. Biol. **107**, 119. — Hillman, W. S.: Injury of tomato plants by continuous light and unfavorable photoperiodic cycles. Amer. J. Bot. **43**, 89—96 (1956). — Kopetz, L. M., u. O. Steinbeck: Photoperiodische Untersuchungen an Kartoffelsämlingen. Züchter **24**, 69—77 (1954). — Kuhn, R., u. I. Löw: Notiz über ein Alkaloidglykosid aus den Blättern einer Wildtomate. Chem. Ber. **81**, 552—553 (1948). — Kuhn, R., I. Löw u. A. Gauhe: Über das Alkaloidglykosid von *Lycopersicon esculentum* var. *pruniforme* und seine Wirkung auf die Larven des Kartoffelkäfers. Chem. Ber. **83**, 448—452 (1950). — Luckwill, L. C.: The genus *Lycopersicon*. Aberdeen Univ. Stud. **120** (1943). — Marker, R. E., and I. Lopez: The seasonal variations of sapogenins in plants and biogenesis of steroidal sapogenins in plants. J. Amer. chem. Soc. **69**, 2375, 2383 (1947). — Mothes, K., L. Engelbrecht, K.-H. Tschöpe u. G. Hutschenreuter-Trefftz: Wurzelaktivität und Nikotinbildung. Flora (Jena) **144** 518—536 (1957). — Peckolt, Th.: Heil- und Nutzpflanzen Brasiliens. Ber. dtsch. pharmaz. Ges. **19**, 180—207 (1909). Prokoschew, S. M., E. I. Petrotschenko u. W. S. Baranowa: Die Veränderlichkeit des Tomatingehaltes in den Blättern der Tomate. [Russisch.] Dokl. Akad.

Nauk. SSSR. **83**, 261—264 (1952). — Prokoschew, S. M., I. Petrotschenko, G. S. Iljin, W. S. Baranova u. N. A. Lebedewa: Die Glykoalkaloide in den Blättern und Knollen vegetativ gepfropfter Solanaceen. [Russisch]. Dokl. Akad. Nauk. SSSR. **83**, 881—884 (1952). — Rick, C. M., and R. Lamm: Biosystematic studies on the status of *Lycopersicon chilense*. Amer. J. Bot. **42**, 663—675 (1955). — Ruge, U.: Anzucht von Pflanzen bei ausschließlich künstlicher Beleuchtung. Z. Bot. **42**, 31—62 (1954). — Sander, H.: Studien über Bildung und Abbau von Tomatin in der Tomatenpflanze. Planta (Berl.) **47**, 374—400 (1956). — Über Blütenbildung und Tomatingehalt bei *Lycopersicon glandulosum* Mull. Naturwiss. **44**, 547 (1957). — Tomatin, ein möglicher Ausgangsstoff für die Lycopinbildung. Naturwiss. **45**, 59 (1958). — Schreiber, K.: Neuere Untersuchungen auf dem Gebiet der *Solanum*-Alkaloide. Abh. dtsch. Akad. Wiss. Berlin, Kl. Chem., Biol. u. Geol. **1956**, Nr 7, 143—157. — Persönliche Mitteilung 1957. — Schulz, G., u. H. Sander: Über Cholesterin-Tomatid. Eine neue Molekülverbindung zur Analyse und präparativen Gewinnung von Steroiden. Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **308**, 122—126 (1957). — Schulze, E.: Mechanische Keimanregung, Schosserbildung und photoperiodisches Verhalten bei Kartoffeln. Z. Acker- u. Pflanzenbau **98**, 385—422 (1954). — Ref. Ber. wiss. Biol. **96**, 192. — Went, F. W.: The effect of temperature on plant growth. Ann. Rev. Plant Physiol. **4**, 347—362 (1953). — Wolf, M. J., and B. M. Duggar: Estimation and physiological role of solanine in the potato. J. agric. Res. **73**, 1—32 (1956).

Dr. H. Sander,
Institut für Pharmakognosie der Freien Universität Berlin,
Berlin-Dahlem, Schweinfurthstr. 63

Aufnahmebedingungen

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Bei Arbeiten aus Instituten ist eine Erklärung des Direktors oder eines Abteilungsleiters beizufügen, daß er mit der Publikation der Arbeit aus dem Institut bzw. der Abteilung einverstanden ist und den Verfasser auf die Aufnahmebedingungen aufmerksam gemacht hat.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Für die Rechtschreibung ist die „Wissenschaftliche Rechtschreibung nach JANSEN" maßgebend, mit der die Schreibung der Termini im „Handwörterbuch der Naturwissenschaften" (Jena 1931—1934) im wesentlichen übereinstimmt. Wenn nötig, wird die Angleichung durch die Herausgeber bzw. durch die Druckerei vorgenommen.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photographien. Einzelfiguren einer Abbildung sind, falls es sich um Vorlagen für Strichätzungen handelt, wenn möglich so zusammenzustellen, daß sie in *einem* Klischee bei gleicher Verkleinerung reproduziert werden können. Buchstaben u.a. sind mit Bleistift beizufügen.

Die Texte zu den Abbildungen sind auf eigenem Blatt gesammelt beizugeben.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse (höchstens 1 Seite) anzufügen, die in Deutsch oder Englisch oder Französisch abgefaßt sein kann.

Zu den Literaturverzeichnissen: Bei Zeitschriftenartikeln sollen der Titel sowie erste und letzte Seite angegeben werden. In den Titeln von Büchern aller Sprachen sollen, zur Kennzeichnung gegenüber Artikeln in Zeitschriften, Substantiva wie Adjektiva groß, dagegen in den Abkürzungen von Zeitschriftentiteln die Substantiva groß und die Adjektiva klein geschrieben werden (z. B. Cell Res., aber cell. Physiol.).

Morphology and Physiology of Plant Tumors

By **Armin C. Braun** and **Tom Stonier**, New York.
(Protoplasmatologia, Handbuch der Protoplasmaforschung. Herausgegeben von **L. V. Heilbrunn**, Philadelphia und **F. Weber**, Graz. Band X: Pathologie des Protoplasmas. 5a. Morphology and Physiology of Plant Tumors.) With 7 figures. IV, 93 Seiten Gr.-8°. 1958. DM 30.—

Contents: **Introduction.** — **The Crown Gall Disease.** Introduction. Morphological, Histological and Cytological aspects. Physiological aspects (The two-phase Concept of tumor development. The role of the bacteria in tumor formation. The role of the wound in tumor inception. The possible role of bacterial auxin as a "cocarcinogen" in tumor genesis. The growth-substance metabolism of crown gall tumor cells. The tumor-inducing principle). — **Discussion of the crown gall disease.** — **Habituation.** — **Virus Tumors.** Introduction. The inciting agent. *In vitro* studies. Tumor-initiating stimuli. Morphological and genetic aspects. Histological and Cytological aspects. Discussion of virus tumors. — **Genetic Tumors.** Introduction. Morphology. Histology. Cytology. Genetic aspects. *In vitro* studies. Discussion of genetic tumors. — **Acknowledgements.** — **General Discussion.** — Bibliography.

SPRINGER-VERLAG / WIEN

Soeben erschien:

Fortschritte der Botanik

Begründet von Fritz von Wettstein. Unter Zusammenarbeit mit mehreren Fachgenossen und mit der Deutschen Botanischen Gesellschaft herausgegeben von **Erwin Bünning**, Tübingen, und **Ernst Gäumann**, Zürich.

Zwanzigster Band: **Bericht über das Jahr 1957.** Mit 19 Abbildungen. IV, 326 Seiten Gr.-8°. 1958. DM 59.60
Ganzleinen DM 63.—

Inhaltsübersicht: **A. Morphologie: Morphologie und Entwicklungsgeschichte der Zelle.** Von Professor Dr. L. Geitler, Wien. — **Morphologie einschließlich Anatomie.** Von Professor Dr. W. Troll und Professor Dr. H. Weber, Mainz. — **Entwicklungsgeschichte und Fortpflanzung[1].** Von Professor Dr. K. Steffen, Braunschweig. — **Submikroskopische Morphologie.** Von Professor Dr. K. Mühlethaler, Zürich. — **B. Systemlehre und Pflanzengeographie: Systematik und Phylogenie der Algen.** Von Professor Dr. B. Schussnig, Jena. — **Systematik und Stammesgeschichte der Pilze.** Von Dozent Dr. H. Kern, Zürich. — **Systematik der Flechten.** Von Dr. J. Poelt, München. — **Systematik der Moose.** Von Dr. J. Poelt, München. — **Systematik der Pteridophyten[1].** Von Dr. J. Poelt, München. — **Systematik der Spermatophyta[1].** Von Privatdozent Dr. H. Merxmüller, München. — **Paläobotanik[1].** Von Professor Dr. K. Mägdefrau, München. — **Systematische und genetische Pflanzengeographie: Areal- und Florenkunde.** Von Professor Dr. H. Gams, Innsbruck. — **Floren- und Vegetationsgeschichte seit dem Ende des Tertiärs.** Von Professor Dr. F. Firbas, Göttingen. — **Ökologische Pflanzengeographie.** Von Professor Dr. H. Walter, Stuttgart-Hohenheim, und Professor Dr. H. Ellenberg, Zürich. — **Ökologie.** Von Professor Dr. Th. Schmucker, Hann.-Münden. — **C. Physiologie des Stoffwechsels: Physikalische und chemische Grundlagen der Lebensprozesse (Strahlenbiologie)[1].** Von Professor Dr. W. Simonis, Würzburg, und Professor Dr. H. Glubrecht, Hannover. — **Zellphysiologie und Protoplasmatik.** Von Professor Dr. H. J. Bogen, Braunschweig. — **Wasserumsatz und Stoffbewegungen.** Von Professor Dr. B. Huber, München, und Privatdozent Dr. L. Bauer, Tübingen. — **Mineralstoffwechsel.** Von Professor Dr. H. Burström, Lund (Schweden). — **Stoffwechsel organischer Verbindungen I (Photosynthese)[1].** Von Professor Dr. A. Pirson, Göttingen. — **Stoffwechsel organischer Verbindungen II.** Von Dr. F. Eberhardt†, Tübingen. — **D. Physiologie der Organbildung: Vererbung: Genetik der Mikroorganismen.** Von Professor Dr. R. W. Kaplan, Frankfurt a. M. **Genetik der Samenpflanzen.** Von Professor Dr. C. Harte, Köln-Lindenthal. — **Cytogenetik.** Von Professor Dr. J. Straub, Köln-Riehl. — **Wachstum.** Von Dozent Dr. J. Reinert, Tübingen. — **Entwicklungsphysiologie[1].** Von Professor Dr. A. Lang, Los Angeles, California (USA). — **Physiologie der Fortpflanzung und Sexualität.** Von Professor Dr. H. Linskens, Nijmegen (Holland). — **Bewegungen.** Von Dr. W. Haupt, Tübingen. — **Viren: Pflanzenpathogene Viren.** Von Oberreg.-Rat Dr. E. Köhler, Braunschweig. **Bakteriophagen[1].** Von Professor Dr. W. Weidel, Tübingen. — Sachverzeichnis.

Die Abschnitte A und B sind von E. Gäumann und die Abschnitte C und D sowie das Sachverzeichnis von E. Bünning redigiert.

[1] Der Beitrag folgt in Band XXI.

SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg — Druck der Universitätsdruckerei H. Stürtz AG, Würzburg
Printed in Germany